GEWEBEHISTAMINSPIEGEL UND KINETIK DER ENTZÜNDUNGS-REAKTION IN DER FRÜHPHASE DER KONTAKTDERMATITIS AM MEERSCHWEINCHEN

Hans Grimm

1981

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547022_0006

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik der
Universität München
Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. O. Braun-Falco

GEWEBEHISTAMINSPIEGEL UND KINETIK DER ENTZÜNDUNGS-REAKTION IN DER FRÜHPHASE DER KONTAKTDERMATITIS AM MEERSCHWEINCHEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Hans Grimm

aus

Straubing

1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. J. Ring
Mitberichterstatter: Prof. Dr. Dr. h. c. O. Braun-Falco
Dekan: Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung: ~~8.10.1981~~
05. Nov. 1981

Meinen Eltern
in Dankbarkeit
gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A) Einleitung	3
B) Material und Methodik	6
1.1. Versuchstiere, Sensibilisierung und Auslösung	6
1.2. Markierung der Testfelder und Gewinnung der Gewebsproben	7
2. Reagenzien	8
3. Verarbeitung der Gewebsproben	15
C) Ergebnisse	20
1. Veränderungen der Histaminkonzentration in der Meerschweinchenhaut	20
1.1. Ausgangswerte vor der Auslösung	20
1.2. Der Verlauf der Histaminkonzentration nach dem Auftragen von DNCB	21
1.3. Einfluß von Antihistaminika auf die Histaminausschüttung	24
1.4. Beeinflussung des Histamingehaltes der Haut bei der DNCB-induzierten Kontaktdermatitis durch Serumlösungen	30
2. Histologie	41
2.1. Das histologische Bild eines Normalbefundes der Meerschweinchenhaut	41
2.2. Veränderungen in der Meerschweinchenhaut durch eine toxische Dermatitis	41
2.3. Die Zunahme des zellulären Infiltrates in der Kutis durch eine Hautreizung mit DNCB in toxischer Dosierung	44
2.4. Der Einfluß von Antihistaminika auf die Einwanderung von Infiltratzellen in die Kutis bei der toxischen Dermatitis	46

Seite

2.5. Die Einwanderung von Infiltratzellen bei DNCB-induzierter toxischer Dermatitis unter dem Einfluß von Antilymphozytenglobulin 49

2.6. Die Auswirkung von Antilymphokinserum auf die Einwanderungskinetik von Infiltratzellen in die obere Kutis während einer toxischen Dermatitis 51

2.7. Zeitlicher Ablauf der DNCB(0,05%)-induzierten allergischen Kontaktdermatitis im histologischen Bild 55

2.8. Der Einfluß von Antilymphozytenglobulin auf den Ablauf einer allergischen Kontaktdermatitis 57

2.9. Die Auswirkung eines Histamin H_2-Rezeptorenblockers auf den Ablauf einer allergischen Kontaktdermatitis 58

2.10. Die Veränderung des Reaktionsablaufes einer allergischen Kontaktdermatitis durch Antilymphokinserum 59

D) Diskussion 62

1. Die Bedeutung des Gewebehistaminspiegels 64
2. Mechanismen der Histaminfreisetzung 67
3. Die Rolle der Lymphokine 70
4. Die Bedeutung der Sensibilisierung für das allergische Ekzem und die toxische Dermatitis 75
5. Die Unterscheidung einer allergischen von einer toxischen Kontaktdermatitis 76

E) Zusammenfassung 79

F) Literatur 80

Danksagung 98

Lebenslauf 99

A. EINLEITUNG

Die neuen Erkenntnisse der Allergie und der Immunologie haben die pathogenetischen Zusammenhänge mancher bisher unbekannter Krankheiten aufgeklärt. Besonders die Dermatologie befaßt sich immer mehr mit dem Phänomen der Allergie.
Von Pirquet definierte im Jahre 1906 Allergie folgendermaßen (64): "Für diesen allgemeinen Begriff der veränderten Reaktionsfähigkeit schlage ich den Ausdruck Allergie vor. Allos bezeichnet die Abweichung von der ursprünglichen Verfassung, von dem Verhalten des Normalen, wie in Allorhythmie, Allotropie."
Immunität unterscheidet von Pirquet durch das klinische Erscheinungsbild von der Allergie (64): "Die Bezeichnung Immunität soll auf jene Prozesse beschränkt werden, wo die Einbringung der fremden Substanz in den Organismus gar keine klinische Reaktion gibt, wo also eine vollkommene Unempfindlichkeit vorhanden ist."
Einer allergischen Reaktion geht in aller Regel ein Primärkontakt mit dem Allergen voraus, aufgrund dessen sich eine Überempfindlichkeit aufbaut (Sensibilisierungsphase) (69, 74). Der genaue Pathomechanismus der Sensibilisierung oder das Ausbleiben einer Überempfindlichkeit wegen einer speziellen Verabreichungsform (oral) wird weiterhin erforscht (3, 23, 34, 37, 39, 54, 57, 65, 67, 87).
Entsprechend der Geschwindigkeit des Reaktionsablaufes werden in der Klassifikation der Allergietypen die humoralen (antikörpervermittelten) Frühreaktionen von den zellulären (lymphozytären) Spätreaktio-

nen unterschieden (1, 26, 29, 30, 32, 36, 58, 59, 67, 80).
Das Wesen zellulärer Abwehrmechanismen beruht auf der Anwesenheit spezifisch sensibilisierter Lymphozyten. Diese Lymphozyten setzen nach Antigenkontakt Faktoren frei, die für das entzündliche Infiltrat und die Gewebsläsion verantwortlich sind. Die Faktoren werden Lymphokine genannt (27). In neuester Zeit wurden eine Vielzahl dieser Lymphokine, deren Auftreten bei Mensch und Tier, die stofflichen Eigenschaften (keine Antikörper!) und deren Wirkungsmechanismus beschrieben (4, 14, 25, 28, 42, 44, 46, 51, 69, 71, 82, 102).
Während man lange Zeit der Ansicht war, daß nur bei antikörpervermittelten Reaktionen (IgE) die Freisetzung vasoaktiver Amine, speziell von Histamin, erfolgen würde, mehren sich heute die Erkenntnisse über die Bedeutung vasoaktiver Mediatoren bei allen Vorgängen mit entzündlicher Komponente (2, 43, 68, 81). Bei einigen Spättypreaktionen wurde das vermehrte Auftreten basophiler Leukozyten beobachtet (31, 49, 52). Da beim Menschen basophile Leukozyten als einzige Zellen neben den Mastzellen Histamin produzieren und freisetzen können, wäre die Bedeutung vasoaktiver Amine und besonders des Histamins bei der allergischen Reaktion vom Spättyp von erheblichem Interesse.

Unsere Versuche beschäftigen sich mit der Erforschung der Kontaktdermatitis in der Frühphase. Es sollen der Einfluß von Medikamenten auf die Reaktion beur-

teilt und Rückschlüsse auf den Pathomechanismus der Reaktionen gezogen werden. Untersucht wird weiterhin die Abhängigkeit von der Dosis des auslösenden Allergens, wobei besonderes Augenmerk auf die Unterscheidung einer toxischen von einer allergischen Reaktion gelegt wird. Die Ausschüttung von Histamin als vasoaktive Mediatorsubstanz wurde gemessen und der Gewebehistaminspiegel während eines allergischen Ekzems mit der Histaminkonzentration im Ablauf einer toxischen Kontaktdermatitis verglichen.

B. MATERIAL UND METHODIK

Die Versuche wurden in der Zeit von Oktober 1978 bis März 1980 in der Dermatologischen Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München (Dir.: Prof. Dr. Dr. h. c. O. Braun-Falco) durchgeführt.

1.1. Versuchstiere, Sensibilisierung und Auslösung

Für die Experimente wurden Albino-Meerschweinchen beiderlei Geschlechts mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 600 g ausgewählt. Vor und während der Versuche erhielten die Tiere Wasser und laborübliches Fressen ad libitum.
Die Sensibilisierung aller Tiere erfolgte durch tägliches Einreiben einer ca. 4cm^2 großen enthaarten Hautstelle am Meerschweinchennacken mit 2%iger DNCB-salbe über fünf aufeinanderfolgende Tage. Danach wurden die Tiere 14 Tage lang unbehandelt im Stall belassen, um eine Ausheilung der Hautreizung zu ermöglichen und den Aufbau einer Überempfindlichkeit gegenüber DNCB zu erreichen (17, 18, 34, 38, 40, 41, 45, 53, 60, 65, 67, 84).
Tab. 1 verdeutlicht das Vorgehen:

Tage	Beschickung der Tiere mit DNCB	Effekt
1.-5.	in 2%iger Lösung	Hautreizung
6.-19.	-	Aufbau der Sensibilität
19.-	2% ↓ 1% ↓ 0,05% ↓	Auslösung der Entzündungsreaktion

1.2 Markierung der Testfelder und Gewinnung der Gewebsproben

Vor der Auslösung der Reaktion wurden die Tiere am Rücken rasiert und Felder mit nicht wasserlöslichem Filzschreiber markiert. Die Testareale hatten eine Fläche von durchschnittlich $2cm^2$ und grenzten aneinander wie die Felder eines Schachbretts. Die Tiere wurden mit den Testsubstanzen in die markierten Bezirke intradermal gespritzt. Im gleichen Arbeitsgang wurde DNCB-Salbe dünn auf die Haut gestrichen und damit die Entzündungsreaktion in Gang gebracht. Die angegebenen DNCB-Konzentrationen und die verschiedenen Pharmaka sollten durch mehrere Versuchsreihen getestet werden.
Zur Gewinnung der Proben wurden die Tiere - die ersten nach zwei Stunden, die weiteren nach der jeweils festgesetzten Zeit (bis zu 24 Stunden) - getötet. Ein Tier lieferte dabei Proben für mehrere Testsubstanzen. Um einen zeitlichen Verlauf zu erreichen, wurden Präparate von mehreren Tieren mit ihrer unterschiedlichen, individuellen Empfindlichkeit verglichen. Am lebenden, unnarkotisierten Tier Präparate zu gewinnen und damit einen Verlauf ohne individuelle Toleranzbreiten zu erzielen, war aus ethischen Gründen nicht möglich.
Vor der Tötung wurden die Meerschweinchen mit Äther betäubt und durch Aufschneiden der Halsschlagader entblutet. Die Haut der markierten Felder wurde sodann freipräpariert und für die verschiedenen Untersuchungen weiterverarbeitet.

2. Reagenzien

2.1. 1-Chlor-2,4-dinitrobenzol (DNCB)

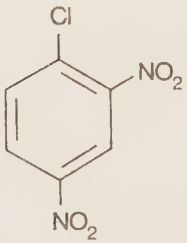


Abb.1: 1-Chlor-2,4-dinitrobenzol ($C_6H_3ClN_2O_4$), Präparat der Fa. Merck, Germany, Artikel Nr. 2427.
Mol.-Gew. 202,55;
Schmelzpunkt 50-52°C

DNCB ist ein gelbes Pulver, das in Wasser unlöslich, in organischen Lösungsmitteln wie Äther, Benzol, Glycerin löslich ist (5, 18). Häufig werden zur Sensibilisierung und Auslösung einer allergischen Reaktion acetonische Mixturen verwendet (65).
In unseren Versuchen wurde DNCB in Eucerin gelöst. Die Rezepturen für die Herstellung der DNCB-Salben lauten:

1-Chlor-2,4-dinitrobenzol	2
Eucerin anhydricum	ad 100,0
M. f. ung.	
S.: 2%ige DNCB-Salbe	

1-Chlor-2,4-dinitrobenzol	1
Eucerin anhydricum	ad 100,0
M. f. ung.	
S.: 1%ige DNCB-Salbe	

1-Chlor-2,4-dinitrobenzol	0,05
Eucerin anhydricum	ad 100,0
M. f. ung.	
S.: 0,05%ige DNCB-Salbe	

2.2. Präparate aus der Gruppe der Antihistaminika

Untersucht wurden der H_1-Rezeptorenblocker Clemastin, Cimetidin als Vertreter eines H_2-Rezeptorenblockers und eine Mischung aus beiden Substanzen.

2.2.1. Clemastin

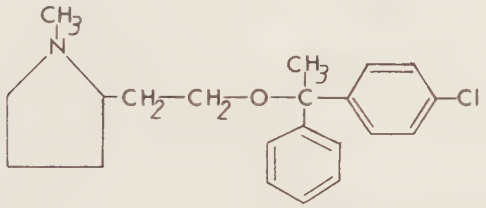


Abb. 2: Chemische Struktur von Clemastin
2(2-(p-Chlor-α-methyl-benzyl-oxy)-aethyl)-1-methyl-pyrrolidin

Die Wirkung von Clemastin wird folgendermaßen erklärt (Auszüge aus dem Beipackzettel von Tavegil^R(Sandoz AG, Nürnberg, Deutschland)):
Die selektive Hemmung der Histaminfreisetzung führt zu einer Verminderung des Juckreizes. Außerdem wird eine Herabsetzung der Kapillarpermeabilität angenommen. Bei lokaler Anwendung sind Reizerscheinungen bekannt, die bei der Erhöhung der Lösungsmittelmenge vermindert werden.
Das im Handel erhältliche Präparat (Ampulle, empfohlen zur intravenösen Anwendung) enthält 0,536mg Clemastin-hydrogenfumarat (entsprechend 0,4mg Base) in 1ml Lösung. 0,1ml der so konzentrierten Zubereitung wurde intrakutan appliziert.

2.2.2. Cimetidin

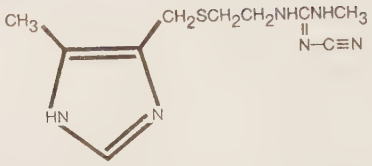


Abb. 3: Chemische Struktur von Cimetidin
(N"-Cyan-N-Methyl-N'-(2(((5-Methyl-1H-Imidazol-4-yl)Methyl)Thio)-Ethyl)Guanidin)

Cimetidin gehört in die Klasse der Antihistaminika. Es wirkt durch eine kompetitive Hemmung der Histamin H_2-Rezeptoren. Therapeutisch angewandt wird Cimetidin zur Hemmung der basalen, sowie der stimulierten Sekretion von Magensäure. Außerdem wird die Ausschüttung von Pepsin vermindert.
Als Nebenwirkungen sind bei einer kleinen Zahl von Patienten bei systematischer Anwendung Durchfälle, Muskelschmerzen, Schwindel und Hautausschläge aufgetreten. Im Tierversuch führten hohe Dosen von Cimetidin zu einer antiandrogenen Wirkung, die jedoch nach Absetzen des Präparates wieder abklang.
Empfohlen wird eine perorale oder intravenöse Applikationsart bis zu einer maximalen Tagesdosis von 2g. Das im Handel angebotene Präparat (Tagamet^R, SK & F LAB CO, Carolina, USA) enthält 229mg Cimetidin-hydrochlorid (entsprechend 200mg Cimetidin) in 2ml Ampullenlösung. Die bei den Versuchen gespritzte 1:2 Verdünnung der Stammlösung enthält 5mg Cimetidin.

2.2.3. Kombinationsbehandlung mit einem 1:1 Gemisch aus Cimetidin und Clemastin

Die vorangehend beschriebenen Präparationen werden für diese Mischung verwendet. 0,1ml des Gemisches enthalten 5mg Cimetidin und 0,02mg Clemastin. Wechselwirkungen, sei es Wirkungsverstärkung oder -abschwächung durch biochemischen Umbau in vivo oder chemische Bindung durch die Vermischung, sind nicht bekannt.
Untersucht werden soll durch diese Herstellung die Auswirkung einer kombinierten H_1- und H_2-Rezeptorenblockade auf den Reaktionsablauf.

2.3. In der Testreihe angewandte Serumlösungen

2.3.1. Humanes Immunglobulin

Verwendet wurde ein Präparat mit einem Reinheitsgrad von mindestens 95% (Intraglobin^R, Biotest). Es enthält hochkonzentriert die im Serum eines gesunden Menschen vorkommenden Immunglobuline in den aus der Elektrophorese bekannten Mengenverhältnissen. Um das Präparat haltbar zu machen, wird das Globulin lyophilisiert. Das Pulver enthält 500mg Immunglobulin, 18mg Na^+, 27mg Cl^- und 0,25g Glucose. Vor der Injektion wird es aufgelöst in 10ml Aqua pro injectione. 0,1ml der bereiteten Lösung enthält 5mg Immunglobulin.
Angewendet wird das Präparat therapeutisch zur Prophylaxe von Infektionserkrankungen, sowie zur Substitution von Antikörpern bei Mangelsyndromen.
Empfohlen wird intramuskuläre Injektion.
Als Nebenwirkungen können in seltenen Fällen Unverträglichkeitsreaktionen auftreten.

2.3.2. Humanalbumin

Das Präparat ist eine 20%ige sterile, pyrogenfreie Lösung der Albuminfraktion des menschlichen Plasmas (Humanalbumin^{R}, Behringwerke AG, Marburg).
Es enthält folgende Elektrolyte:

Na^{+}	ca. 130 mmol/l
Cl^{-}	ca. 40 mmol/l
Caprylat	ca. 16 mmol/l
N-Acetyl-DL-tryptophanat	ca. 16 mmol/l

Die angegebene Konzentration hat annähernd die vierfache kolloidosmotische Wirkung von Blutplasma.
Die Indikation erstreckt sich auf Zustände mit dringendem Eiweißbedarf.
Als Nebenwirkungen sind Eiweißunverträglichkeitsreaktionen und als gefährlichste Erscheinung der anaphylaktische Schock bei vorausgehender Sensibilisierung bekannt (73, 74).

2.3.3. Ziegenserum (Normal Goat Serum, NGS)

Die bernsteinfarbene Lösung wird durch Zentrifugieren von Vollblut einer Ziege gewonnen. Der zellfreie Überstand wird aufgefangen. Bis zur Verwendung wird das Serum bei -70°C im Tiefkühlschrank aufbewahrt.
Das später erläuterte Antilymphokinserum wurde von einer Ziege gebildet und enthält ebenso Bestandteile dieser Lösung. Um den Unterschied der Antilymphokin-induzierten Wirkung und der Effekte, die bereits durch normales Ziegenserum ausgelöst werden, deutlich werden zu lassen, läuft in der Versuchsreihe als Standard eine Probe NGS mit.

2.3.4. Antilymphozytenglobulin (ALG)

ALG wird aus dem Blut von Pferden gewonnen, die mit humanen Lymphozyten immunisiert worden sind. Die gebildeten Antikörper gehören der Immunglobulinklasse G an. 1ml der sterilen und pyrogenfreien Lösung enthält 50mg Globulin (Antilymphozytenglobulin^{R}, Behring AG, Marburg). Klinisch störende Antikörper gegen Erythrozyten, Thrombozyten und Proteine sind nicht enthalten. Im in vitro Test führt das Serum zur Lyse der Lymphozyten.
Therapeutisch verwendet wird die Zubereitung zur Immunsuppression, z.B. bei Nierentransplantationen, besonders jedoch zur Beherrschung von Abstoßungskrisen.
Bei lokaler Anwendung kann ein toxischer Effekt auf das Gewebe auftreten. Gewöhnlich wird Unverträglichkeit im Sinne von allergischen Reaktionen, wie bei Verwendung aller heterologen Sera, nur nach vorangehender Sensibilisierung beobachtet, also in der Regel bei Wiederverwendung frühestens 14 Tage nach der ersten Applikation.
Die im Versuch getesteten Meerschweinchen waren vorher nie mit heterologen Seren behandelt worden, so daß eine allergische Reaktion nicht zu erwarten ist.
Die Globuline sind gegen Lymphozyten des Menschen gerichtet, jedoch ist eine Kreuzreaktion mit Lymphozyten des Meerschweinchens bekannt (72).
Die Lymphozyten werden von den Antikörpern besetzt und durch das Komplementsystem lysiert. Die Antikörper neutralisieren jedoch nicht die Lymphozytenprodukte. Am Ort der Injektion wird in der Gegenwart von Lymphozyten eine erhöhte Konzentration von Lymphokinen beobachtet.

2.3.5. Antikörper gegen Lymphokine (a-Lyk)

Unter dem Ausdruck "Lymphokine" (27) versteht man eine heterogene Klasse von löslichen Produkten, die von Lymphozyten gebildet werden. Einige der bisher nachgewiesenen Lymphokine können auch von anderen Zellgattungen erzeugt werden. Es hat sich gezeigt, daß Lymphokine Entzündungsvorgänge einleiten, unterhalten und koordinieren können (15, 98, 100, 101). Mit der Herstellung von Antikörpern gegen Lymphokine beschäftigen sich viele Arbeitsgruppen (40, 41, 45, 103). Jedoch ist es noch nicht gelungen, gegen alle heute bekannten Lymphokine Antikörper zu erzeugen. Diese Antikörper gehören der Immunglobulinklasse G an.
Das von uns benutzte "Antilymphokinserum" enthält Antikörper gegen MIF (Macrophage migration inhibitory factor), gegen SRF (Skin reactive factor) und gegen MF (Mitogenic factor).
Für die freundliche Überlassung der Probe danke ich Herrn Prof. Dr. Alain de Weck.
Prof. de Weck gewann das Antiserum durch Immunisierung einer Ziege (40).
Im Versuch kommen 0,1ml der unverdünnten und 0,1ml einer 1:10 verdünnten Lösung zur Anwendung.
Bis zur Verwendung lagerte die Antikörperlösung im Tiefkühlschrank bei $-70^{o}C$, insgesamt etwa ein halbes Jahr.

3. Verarbeitung der Gewebsproben

Nach dem Ausbluten der Tiere wurde die getestete Haut freipräpariert. Die gewonnenen Gewebestücke enthielten die Kutis und die Epidermis. Für die Histaminbestimmung wird ein kleines Stück des Gewebes gewogen, dann in Silberpapier eingehüllt und bis zur Weiterverarbeitung bei -20°C im Kühlschrank aufbewahrt. Der andere Teil der Probe wird in 5%ige Formalinlösung gelegt und so für die histologische Untersuchung konserviert.

3.1 Histaminbestimmung

Alle Präparate werden nach der folgenden Anleitung bearbeitet:

1. Abkühlung der Gewebestücke in flüssigem Stickstoff.
2. Zerkleinern des Präparates mit dem Mikrodismembrator§ (30 Sekunden lang).
3. Das zertrümmerte Gewebe in Plastikröhrchen auffangen und in Aqua bidestillata auftauen.
4. Im Ultraschallgerät§§ bei maximaler Energie 90 Sekunden lang die noch verbleibenden Zellstrukturen aufknacken.
5. 30 Minuten bei 30 000 RPM (Rotor Ti 50) in der Ultrazentrifuge §§§ sedimentieren.

---

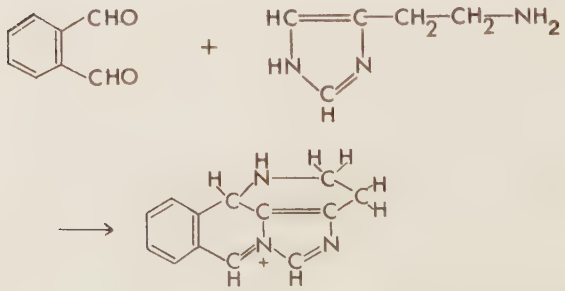
§ Mikrodismembrator II (Braun-Melsungen AG, 3508 Melsungen, Deutschland)

§§ Ultrasonic Disintegrator 100W. Model (Measuring & Scientific Equipment Ltd., 25-28 Buckingham Gate, London, Großbritannien)

§§§ Ultrazentrifuge Spinco L2 (Beckman Instruments, 2500 Harbor Boulevard Fullerton, California, USA)

6. Der Überstand wird in einem Kunststoffröhrchen aufgefangen und mit 1ml 30%iger Perchlorsäure versetzt (Enteiweißung).
7. 10 Minuten zentrifugieren bei 3000 RPM.
8. Den Überstand einfrieren und über die Zeitdauer von 12 Stunden gefriertrocknen§.
9. Das Lyophilisat mit 1ml Aqua bidestillata auflösen (Standartisierung).
10. Fluorometrische Histaminbestimmung im Autoanalyzer§§ (83).
    In dem von R. Siraganian entwickelten Verfahren werden proteinfreie Histaminproben durch ein doppeltes Extraktionsverfahren mit n-Butanol und n-Heptan gereinigt. Der Nachweis erfolgt nach Kondensation des Imidazolringes mit o-Phthaldialdehyd zu einem fluoreszierenden Farbstoff. Die gemessene Fluoreszenzintensität ist der Konzentration des Histamins proportional; geeicht wird das Gerät durch Standardlösungen.

Kondensationsreaktion:



§ Gefriertrockner Typ 200 (Heraeus-Christ GmbH, Gipsmühlenweg 62, Osterode am Harz, Deutschland)

§§ Technicon Auto Analyzer II Fluoronephelometer, Bad Vilbel, Deutschland

Diese Methode erlaubt die Histaminbestimmung aus einem Probenvolumen von 0,4 bis 0,6ml mit einer Präzision von ± 1-2%. Das System eignet sich zur Histaminbestimmung über einen breiten Bereich. Erfaßt werden Werte von 0,05ng bis 5ng Histamin in 0,5ml. Höhere Histaminkonzentrationen können nach Verdünnung gemessen werden.
Der errechnete Histaminwert (Benennung µg) wird durch das Nativgewicht des Gewebestückes (gewogen vor dem Einfrieren) dividiert. In den Graphiken werden Beträge mit der Benennung µg Histamin/g Gewebe aufgetragen.

3.2. Histologische Bearbeitung

Zur histologischen Beurteilung des entzündlichen Geschehens wurden Dünnschnitte hergestellt. Dabei gingen wir folgendermaßen vor:

1. Entnahme nativen Gewebes.
2. Fixierung in 5%iger Formalinlösung.
3. Entwässern der Präparate durch aufsteigende Alkoholreihe (70%, 80%, 96%).
4. Einbetten in Paraffin.
5. Schneiden der Präparate (6µm)§ und Schnitte auf Objektträger aufziehen.
6. Schnitte entparaffinieren mit Xylol.
7. Einlegen der Schnitte in absteigende Alkoholreihe (96%, 80%, 70%).
8. Färben der Schnitte in Hämatoxilin (3 Min.)
9. Präparat unter fließendes Wasser halten (5 Min. lang).
10. Färben mit Eosin (3 Min.), danach das Präparat wieder wässern (5 Min.).
11. Entwässerung und Differenzierung der gefärbten Schnitte (aufsteigende Alkoholreihe und Xylol).
12. Schnitte mit Deckgals belegen.

In der vorliegenden Untersuchung wurde bei den Präparaten mit toxischem Zellbild die Dichte der Infiltratzellen in der oberen Kutis gezählt. Dieses Vorgehen erwies sich bei den Präparaten mit Auslösung durch 1%ige und 2%ige DNCB-Lösung als geeignet.

---

§ Universalmikrotom Modell 1140/Autocut, Fa. Jung, D 6901 Nußloch, Heidelberger Str. 19-21

Als Zelldichte (Z/GF) wurde die Zahl der Infiltratzellen (Z) bezeichnet, die in einem Gesichtsfeld (GF) bei 400facher Vergrößerung gesehen werden konnten. In diesem Mikroskop[§] konnte man bei 400facher Vergrößerung 0,16mm^2 übersehen.
Einige Präparate, bei denen die Dermatitis durch 0,05%ige DNCB-Salbe ausgelöst worden ist, werden ausführlich beschrieben. Für einen schnellen Überblick wurde eine Tabelle erstellt, der folgende Einteilung zugrunde lag:

0	=	keine Veränderungen
+	=	Spongiose
+ +	=	Spongiose + Akanthose
+ + +	=	Nekrose

Besonders interessante Schnitte wurden fotografiert[§§]. Für die fotografischen Abzüge errechnete sich eine Vergrößerung von 375fach, bezogen auf das Format DIN A 4.

---

§ SM-Lux Fa. Ernst Leitz GmbH, D 6330 Wetzlar, Germany

§§ Ortholux Fa. Ernst Leitz GmbH, D 6330 Wetzlar, Germany

C. ERGEBNISSE

1. Veränderungen der Histaminkonzentration in der Meerschweinchenhaut

1.1. Ausgangswerte vor der Auslösung mit DNCB

Drei Tiere wurden nach dem im Methodenteil genannten Schema sensibilisiert. Am Rücken, am Bauch und an der Pfote wurde bei jedem Tier eine Gewebsprobe entnommen. Der Mittelwert von 1,0µg Histamin/g Gewebe ($s\bar{x} = \pm 0,24$) ist als Ausgangskonzentration beim sensibilisierten Tier anzusehen. Aus Tabelle 2 sind die Werte zu entnehmen.

Tier	Rücken	Bauch	Pfote
1	0,95	1,05	0,67
2	1,44	0,71	0,86
3	1,01	1,09	1,22

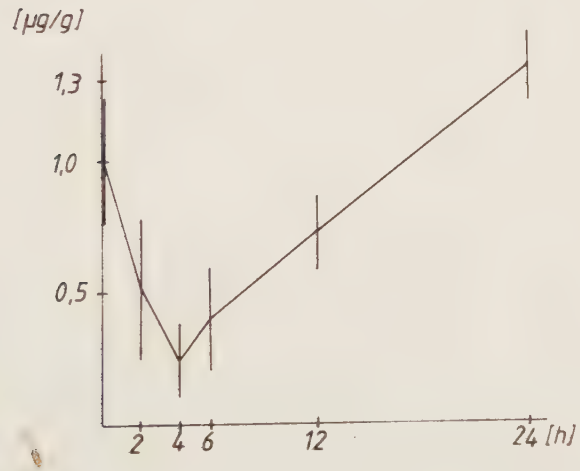
Tab. 2:
Histaminkonzentration der Meerschweinchenhaut beim sensibilisierten Tier ohne Auslösung einer Entzündungsreaktion. Die Werte sind angegeben in µg Histamin/g Gewebe.
$\bar{x} = 1,0$, $s\bar{x} = \pm 0,24$, $n = 9$.

1.2. Der Verlauf der Histaminkonzentration nach dem Auftragen von DNCB auf das Testareal

Zur Auslösung der Entzündungsreaktion wurden drei verschieden konzentrierte DNCB-Lösungen verwendet: Eine 2%ige, eine 1%ige und eine 0,05%ige Zubereitung.

1.2.1. Die Auslösung mit 2%iger DNCB-Lösung

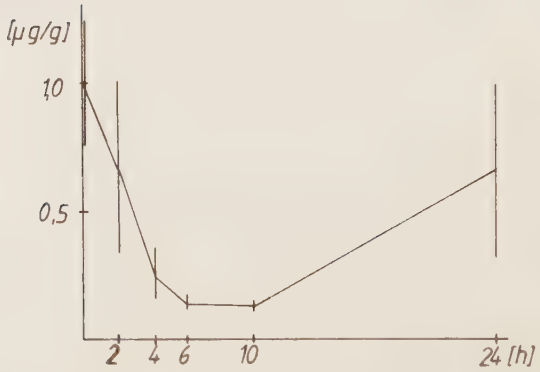
Die Histaminkonzentration fiel bis zu einem Minimalwert nach vier Stunden. Danach stieg der Gehalt an Histamin kontinuierlich an und übertraf den Ausgangswert (Tab. 2) 24 Stunden nach der Auslösung (Graphik 1).



Graphik 1:
Verlauf der Histaminkonzentration bei Auslösung mit 2%iger DNCB-Salbe ohne Medikation. Dargestellt sind die Mittelwerte ± mittlerer Fehler der Mittelwerte der Histaminkonzentration (µg/g) und die Zeit (h) nach dem Auftragen von DNCB. n = 8.

1.2.2. Verhalten der Histaminkonzentration nach Applikation von 1%iger DNCB-Lösung

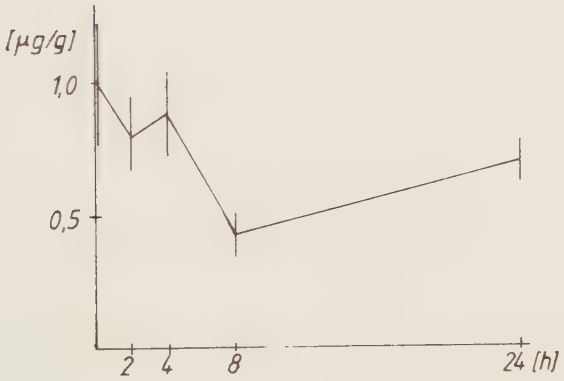
Die Histaminkonzentration des Gewebes nahm beständig ab bis auf 0,2 µg Histamin/g Gewebe nach sechs Stunden und blieb auf diesem Niveau bis zur zehnten Stunde. Daraufhin stieg die Konzentration langsam an, erreichte jedoch bis zur 24. Stunde nach der Auslösung den Ausgangswert (Tab. 2) von 1,0 µg/g nicht (Graphik 2).



Graphik 2:
Änderung der Histaminkonzentration (µg Histamin/g Gewebe) in Abhängigkeit von der Zeit (h) nach dem Auftragen von 1%iger DNCB-Lösung.
Eingezeichnet sind die Mittelwerte ± mittlerer Fehler der Mittelwerte.
n = 13.

1.2.3. Die Einleitung der Dermatitis durch 0,05%ige DNCB-Lösung

Die Verminderung der Konzentration des auslösenden Agens (DNCB) auf 0,05% induzierte einen Entzündungsablauf im Sinne einer allergischen Reaktion (18). Die Histaminkonzentration fiel langsam ab. Acht Stunden nach der Auslösung war mit 0,5 µg/g ein Minimum erreicht, dem ein leichter Anstieg folgte (Graphik 3).

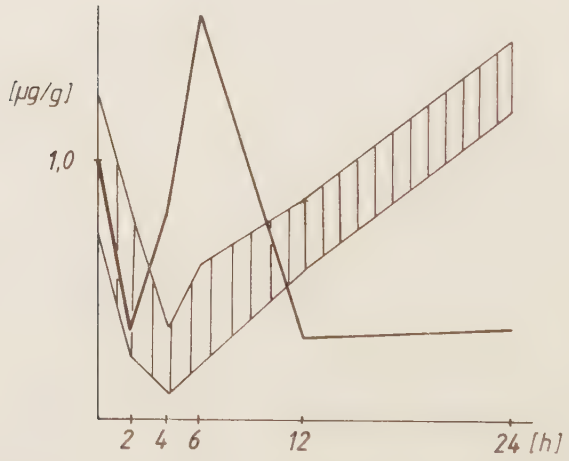


Graphik 3:
Änderung der Histaminkonzentration im Gewebe (µg/g) bei Auslösung mit 0,05%iger DNCB-Lösung.
Aufgetragen sind die Mittelwerte ± mittlerer Fehler der Mittelwerte im zeitlichen Verlauf (in h nach dem Auftragen der DNCB-Lösung).
n = 7.

1.3. Einfluß von Antihistaminika auf die Histaminausschüttung

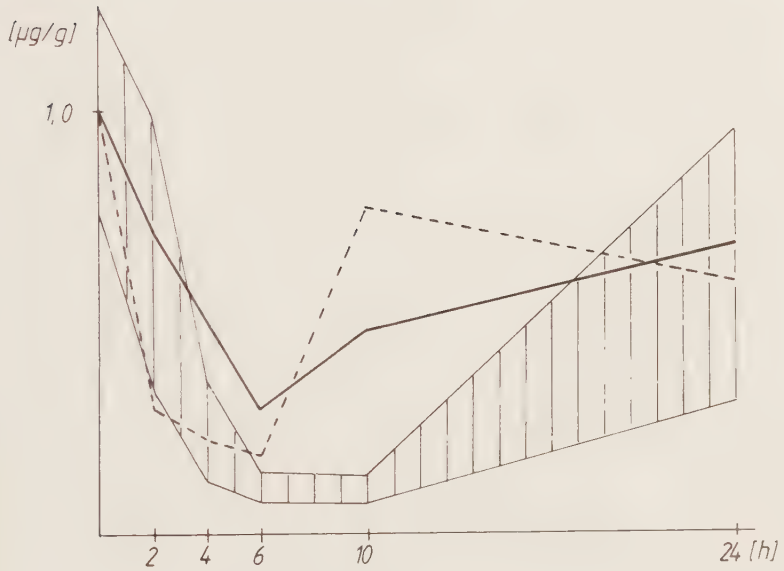
Clemastin (H_1-Rezeptorenblocker), Cimetidin (H_2-Rezeptorenblocker) und ein Gemisch aus beiden Substanzen wurden getestet bei Auslösung der Kontaktdermatitis durch verschiedene DNCB-Konzentrationen.

1.3.1. Veränderungen der Histaminkonzentration in der Haut nach intrakutaner Applikation von Clemastin und Auslösung der Reaktion mit 2%igem DNCB



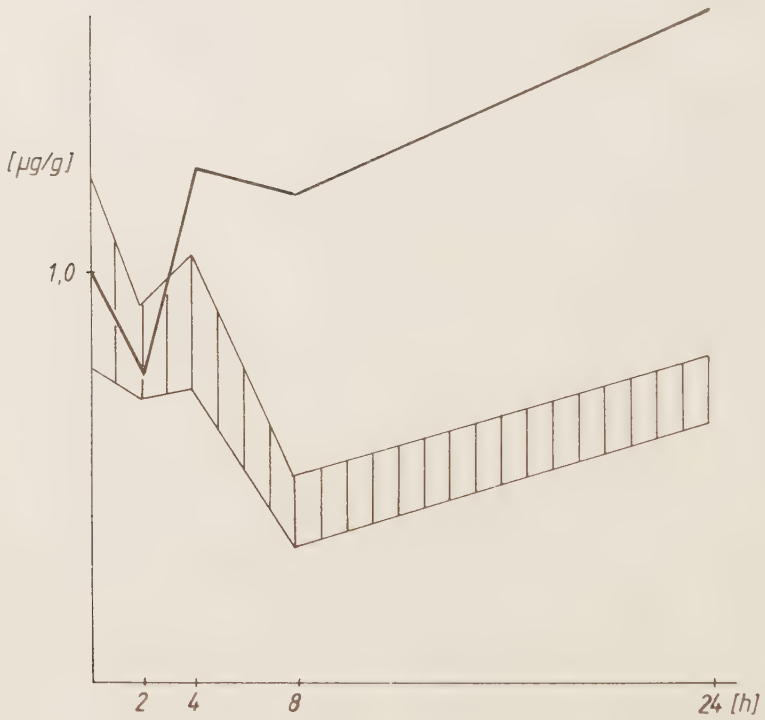
Graphik 4:
Änderung der Histaminkonzentration in der Haut (µg/g) bei intrakutaner Applikation von 0,04mg Clemastin bezogen auf die Zeit (h) nach dem Auftragen von 2%igem DNCB auf das Testareal.
Schraffierter Bereich: Histaminkonzentration bei den Leerwerten (übernommen aus Graphik 1).
n = 8.

1.3.2. Vergleich der Auswirkungen von Cimetidin und der Kombination von Clemastin und Cimetidin auf die Histaminkonzentration bei Auslösung der Kontaktdermatitis mit 1%iger DNCB-Lösung



Graphik 5:
Änderung der Histaminkonzentration in der Haut (µg/g) in der Zeit (h) nach Auslösung einer Kontaktdermatitis durch 1%ige DNCB-Lösung.
Durchgezogene Linie: Intrakutanes Depot von 0,02 mg Clemastin und 5mg Cimetidin.
Gestrichelte Linie: Intrakutane Applikation von 5mg Cimetidin.
Schraffierter Bereich: Kontrollverlauf (siehe auch Graphik 2).
n = 13.

1.3.3. Einfluß von Cimetidin auf den Histamingehalt bei der Auslösung der Dermatitis durch 0,05%-ige DNCB-Zubereitung



Graphik 6:
Verhalten der Histaminkonzentration in der Haut (µg/g) bei Auslösung einer Dermatitis durch 0,05%ige DNCB-Zubereitung und intrakutaner Injektion von 5mg Cimetidin. Zeit (h) nach dem Aufbringen von DNCB.
Schraffierter Bereich: Kontrollverlauf (siehe auch Graphik 3).
n = 10.

H_1-Rezeptorenblocker Clemastin

Clemastin bewirkte bei der Auslösung mit 2%iger DNCB-Salbe nach einem anfänglichen Abfall der Histaminkonzentration auf 0,4 µg/g einen Anstieg auf 1,5 µg/g nach sechs Stunden (Maximalwert). Danach fiel die Konzentration auf 0,4 µg/g bis zur 12. Stunde und blieb auf diesem Wert bis zur 24. Stunde (Graphik 4). Tab. 3 zeigt einen Vergleich mit den Kontrollwerten.

Tab. 3:
Abweichung der Histaminkonzentration bei Verwendung des H_1-Rezeptorenblockers Clemastin vom Kontrollbereich. Zeitangabe in h nach der Auslösung der Dermatitis durch 2%ige DNCB-Salbe.

DNCB 2%	2. h	4. h	6. h	12. h	24. h
H_1	○	↑	↑↑	↓	↑↑

Als Bewertungsschema wurde zugrundegelegt:

Abweichung der Histaminkonzentration vom entsprechenden Kontrollbereich:

- 0,3 µg/g	=	○
0,3 - 0,6 µg/g	=	↑
0,6 - µg/g	=	↑↑

H_1- und H_2-Rezeptorenblocker

Bei der Auslösung mit 1%iger DNCB-Konzentration fiel die Histaminkonzentration beim Gemisch aus H_1- und H_2-Rezeptorenblocker bis zur sechsten Stunde und erreichte dabei den Minimalwert (0,3 µg/g). Danach stieg die Histaminkonzentration wieder an (Graphik 5).
Aus Tab. 4 sind die Abweichungen vom Kontrollbereich zu entnehmen.

H_2-Rezeptorenblocker Cimetidin

Auslösung mit 1%iger DNCB-Salbe (Graphik 5):
In den ersten zwei Stunden fiel die Histaminkonzentration in der Haut stark ab, um dann langsam weiter abzusinken bis zur sechsten Stunde (Minimalwert 0,2 µg/g). Daraufhin stieg der Histamingehalt der Haut wieder steil an bis zur zehnten Stunde, bis zur 24. Stunde sank er dann wieder langsam ab. Die Abweichungen vom Kontrollbereich können aus Tab. 4 entnommen werden.

Tab. 4:
Abweichung der Histaminkonzentration der Haut bei Verwendung eines Gemisches aus einem H_1- und einem H_2-Rezeptorenblocker (0,02mg Clemastin und 5mg Cimetidin) und eines H_2-Rezeptorenblockers (5mg Cimetidin) vom Kontrollbereich. Die Zeit wird in h nach der Auslösung der Dermatitis durch 1%ige DNCB-Salbe angegeben. Bewertungsschema siehe Legende Tab. 3.

DNCB 1%	2. h	4. h	6. h	10. h	24. h
$H_1 + H_2$	O	O	↑	↑	O
H_2	O	O	O	↑↑	O

Auslösung mit 0,05%iger DNCB-Salbe (Graphik 6):
Der Abfall bis zur zweiten Stunde verlief wie bei den Kontrollwerten. Bis zur vierten Stunde stieg der Gehalt an Histamin stark an, blieb dann bis zur achten Stunde relativ konstant, um bis zur 24. Stunde wieder stark anzusteigen. Einen Vergleich mit den Kontrollwerten zeigt Tab. 5.

Tab. 5:
Abweichung der Histaminkonzentration der Haut bei Verwendung des H_2-Rezeptorenblockers Cimetidin (5mg) vom Kontrollbereich. Die Zeit wird in h nach der Auslösung der Dermatitis durch 0,05%ige DNCB-Zubereitung angegeben.
Bewertungsschema siehe Legende Tab. 3.

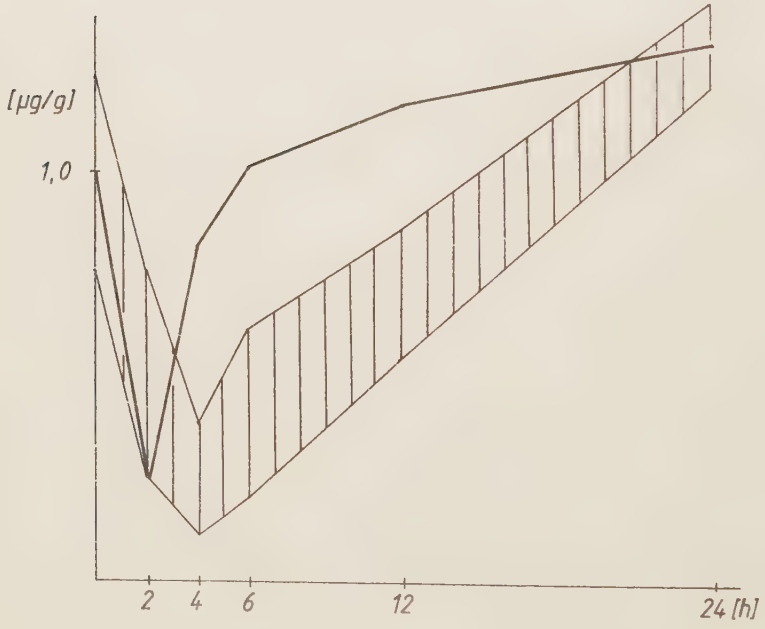
DNCB 0,05%	2. h	4. h	8. h	24. h
H_2	○	↑	↑↑	↑↑

1.4. Beeinflussung des Histamingehaltes der Haut bei der DNCB-induzierten Kontaktdermatitis durch Serumlösungen

Ausgetestet wurden Humanalbumin, humanes Immunglobulin, Antilymphozytenglobulin und ein Antilymphokinserum durch Injektion von 0,1ml Lösung als intrakutanes Depot. Die Dermatitis wurde ausgelöst mit DNCB in 2%iger, 1%iger und 0,05%iger Konzentration.

1.4.1. Veränderung der Histaminkonzentration durch Humanalbumin

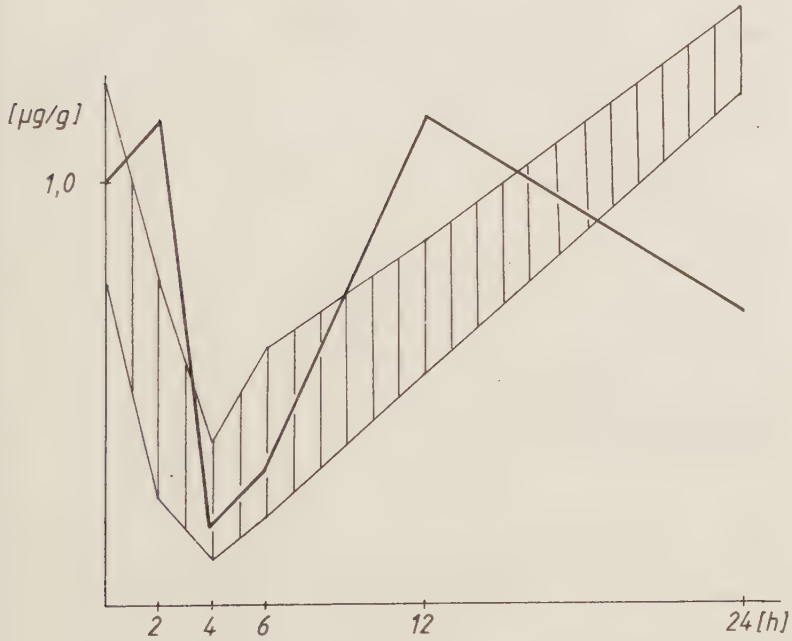
Bereits nach zwei Stunden war bei Verwendung von Humanalbumin ein Wiederansteigen der Histaminkonzentration im Gewebe erfolgt (Graphik 7).



Graphik 7:
Veränderung der Histaminkonzentration in der Haut (µg/g) durch intrakutanes Depot von 0,2g Humanalbumin in Abhängigkeit von der Zeit (h) nach dem Auftragen von 2%iger DNCB-Lösung. n = 8.
Schraffierter Bereich: Kontrollwerte

1.4.2. Die Histaminkonzentration der Haut bei der DNCB-induzierten Kontaktdermatitis unter dem Einfluß von humanem Immunglobulin

Die Histaminkonzentration fiel erst nach der zweiten Stunde ab, dann jedoch sehr stark. Von der vierten bis zur zwölften Stunde stieg der Histamingehalt der Meerschweinchenhaut stark an und fiel dann aber wieder ab bis zur 24. Stunde unter das Niveau der Kontrollwerte (Graphik 8).



Graphik 8:
Änderung der Histaminkonzentration in der Haut (µg/g) unter dem Einfluß von 5mg humanem Immunglobulin in h nach der Auslösung einer Dermatitis durch 2%ige DNCB-Salbe. n = 8.
Schraffierter Bereich: Kontrollwerte

Humanalbumin

Humanalbumin führte bei der Dermatitis, ausgelöst durch 2%ige DNCB-Salbe, nach dem Abfall bis zur zweiten Stunde zu einem raschen Anstieg der Histaminkonzentration im folgenden Verlauf. Der Histamingehalt nahm beständig zu bis zur 24. Stunde. Von der vierten bis zur zwölften Stunde übertraf der Histamingehalt dieser Probe deutlich den Kontrollbereich (Tab. 6).

Humanes Immunglobulin

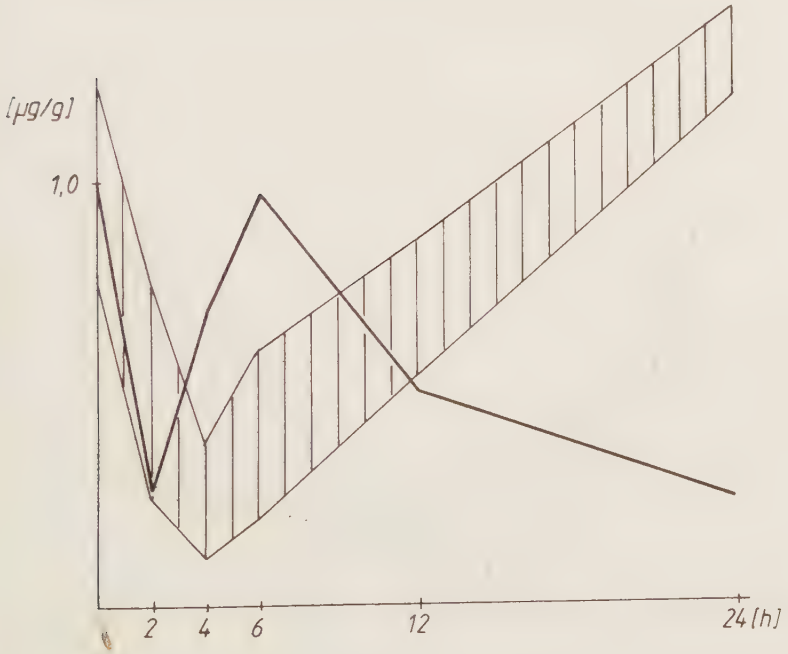
Immunglobulin verzögerte den Abfall der Histaminkonzentration. Dieser erfolgte dann von der zweiten bis zur vierten Stunde. Danach stieg der Histamingehalt bis zur zwölften Stunde, um dann wieder abzufallen. Aus Tab. 6 sind Vergleichswerte mit dem Kontrollbereich zu entnehmen.

Tab. 6:
Abweichung der Histaminkonzentration der Haut bei Verwendung von humanem Albumin (h Alb, 0,2g), humanem Immunglobulin (h Ig, 5mg) und Antilymphozytenglobulin (ALG, 5mg) vom Kontrollbereich. Die Zeit wird in h nach der Auslösung der Dermatitis durch 2%ige DNCB-Zubereitung angegeben.
Bewertungsschema siehe Legende Tab. 3.

DNCB 2%	2. h	4. h	6. h	12. h	24. h
h Alb	○	↑	↑	↑	○
h Ig	↑	○	○	↑	↓
ALG	○	↑	↑	○	↓↓

1.4.3. Einfluß von Antilymphozytenglobulin (ALG) auf den Histamingehalt der Haut bei DNCB (2%, 1%, 0,05%)-induzierter Kontaktdermatitis

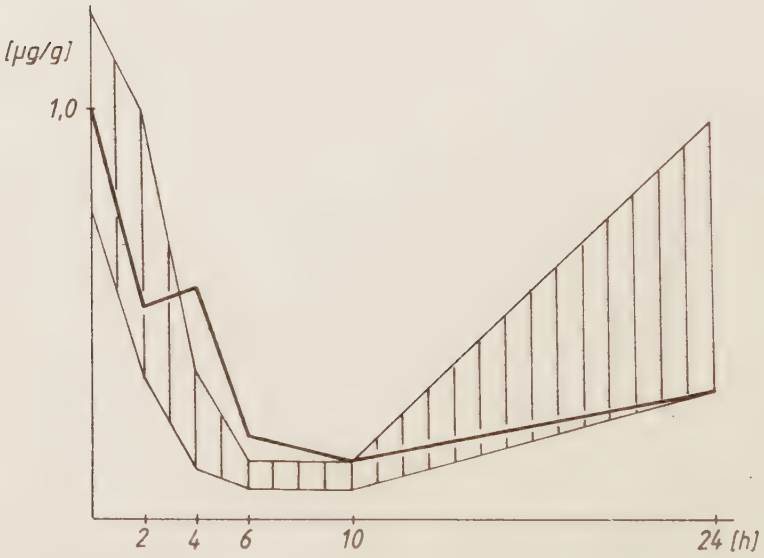
Die Konzentration der auslösenden DNCB-Lösung spielte für den Histamingehalt des Gewebes eine entscheidende Rolle (Graphik 1/2/3). Diese Feststellung traf auch dann zu, wenn Antilymphozytenglobulin (Graphik 9/10/11) intrakutan appliziert wurde.



Graphik 9:
Vergleich der Histaminkonzentration in der Haut (µg/g) unter dem Einfluß von ALG (5mg) mit den Kontrollwerten (schraffierter Bereich).
Die Zeit wird in h nach der Auslösung der Dermatitis durch 2%ige DNCB-Lösung angegeben.
n = 8.

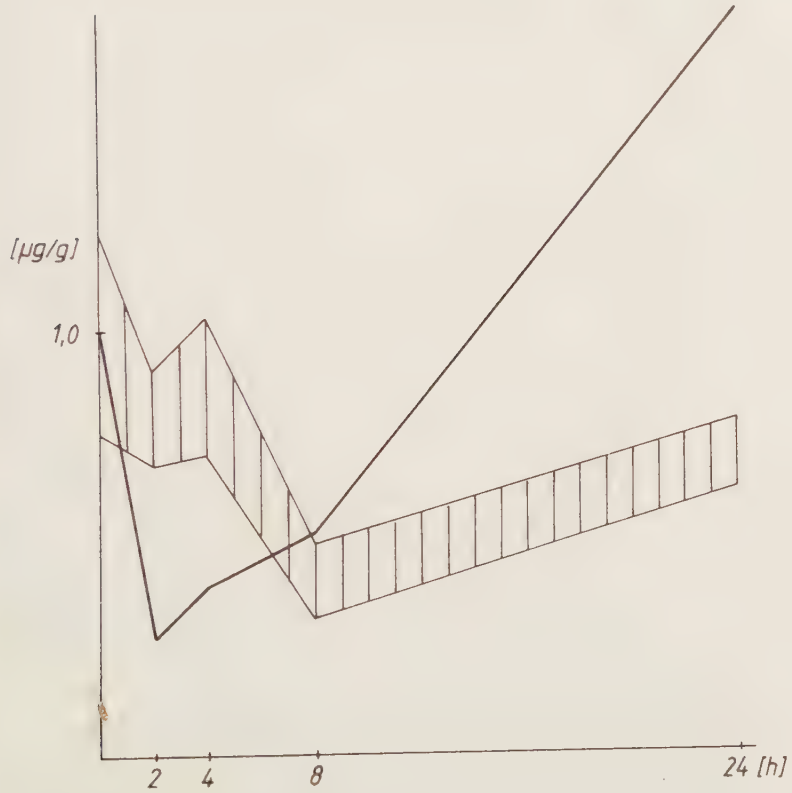
Bei der Auslösung durch 2%ige DNCB-Salbe nahm der Histamingehalt der Haut bis zur zweiten Stunde ab. Danach stieg der Histamingehalt bis zur sechsten Stunde, um kontinuierlich abzufallen bis zur 24. Stunde deutlich unter den Kontrollbereich (Graphik 9, Tab. 6).

Bei der Auslösung durch 1%ige DNCB-Lösung blieb die Histaminkonzentration am niedrigsten über den gesamten Beobachtungszeitraum (Graphik 10). Ein Vergleich mit dem Kontrollbereich zeigt (Tab. 7), daß sich der Histamingehalt der Haut bei dieser DNCB-Konzentration durch Pharmaka am wenigsten beeinflussen ließ.



Graphik 10:
Änderung der Histaminkonzentration in der Haut (µg/g) unter dem Einfluß von 5mg ALG verglichen mit den Kontrollwerten (schraffierter Bereich).
Die Dermatitis wurde ausgelöst mit 1%iger DNCB-Salbe.
Die Zeit wird angegeben in h nach dem Auftragen von DNCB.
n = 13.

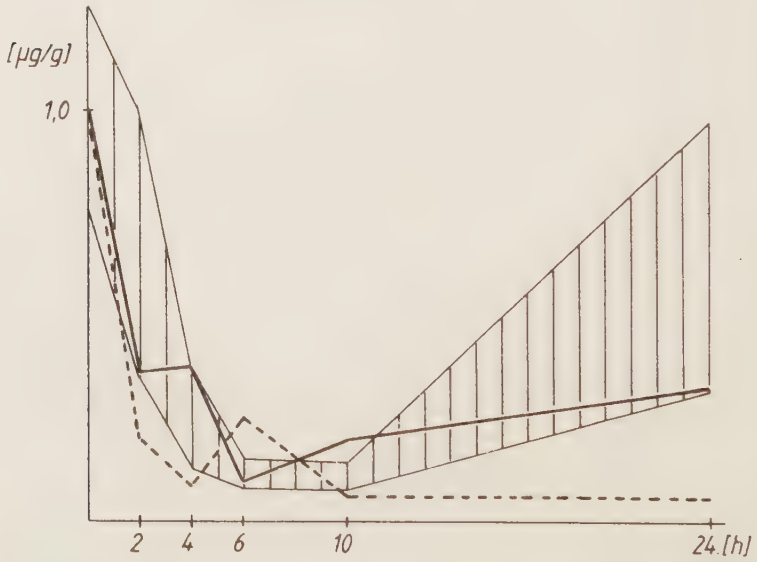
Auslösung durch 0,05%ige DNCB-Salbe:
Die Histaminkonzentration der Haut nahm bis zur zweiten Stunde ab wie bei der Dermatitis, die durch die höheren DNCB-Konzentrationen ausgelöst worden waren (Graphik 2/3). Danach stieg der Histamingehalt kontinuierlich an und erreichte nach 24 Stunden einen Maximalwert (1,6 µg/g) (Graphik 11). Aus Tabelle 8 läßt sich ein Abweichen der Histaminkonzentration der Haut durch Applikation von ALG vom Kontrollbereich entnehmen.



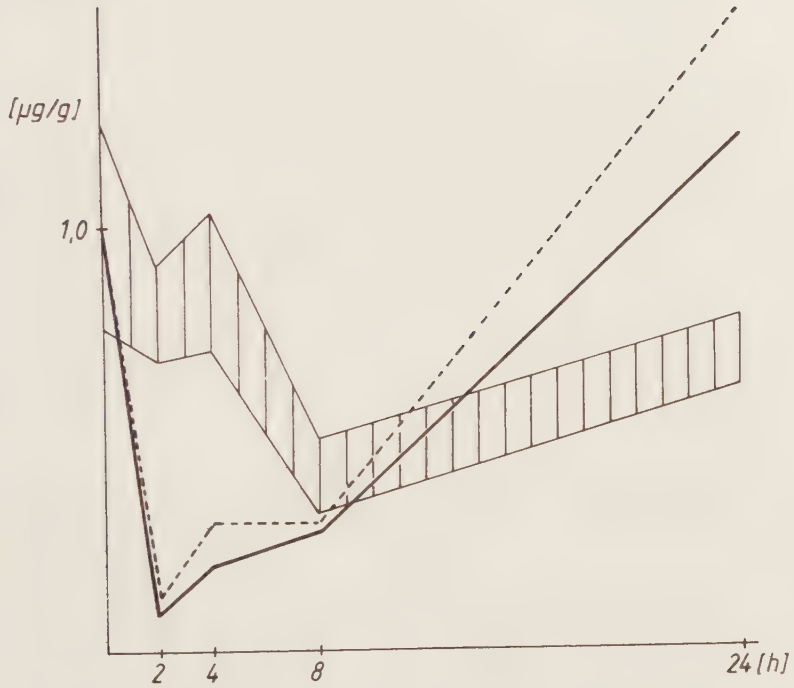
Graphik 11:
Die Histaminkonzentration der Haut (µg/g) im Verlaufe einer DNCB-induzierten Kontaktdermatitis unter dem Einfluß von 5mg ALG.
Schraffierter Bereich: Kontrollwerte
Zeit (h) nach dem Auftragen von 0,05%iger DNCB-Salbe.
n = 10.

1.4.4. Verhalten der Histaminkonzentration der Haut im Verlauf einer DNCB(1%, 0,05%)-induzierten Kontaktdermatitis unter dem Einfluß von Antilymphokinserum

An 17 Tieren wurden Versuche mit Antilymphokinserum durchgeführt. Dabei kamen eine 1:10 Verdünnung und die Stammlösung zur Anwendung. Eingeleitet wurde die Entzündungsreaktion bei den sensibilisierten Tieren durch Aufbringen einer dünnen Schicht 1%iger oder 0,05%iger DNCB-Lösung. Kurz vor der Auslösung der Dermatitis wurde 0,1ml der oben genannten Lösungen intrakutan verabreicht (Graphik 12/13).



Graphik 12:
Durchgezogene Linie: 0,1ml Antilymphokinserum 1:1
Gestrichelte Linie: 0,1ml Antilymphokinserum 1:10
Schraffierter Bereich: Kontrollwerte
Dargestellt sind die Änderungen der Histaminkonzentration (µg/g) im Verlaufe einer DNCB (1%)-induzierten Kontaktdermatitis unter dem Einfluß von Antiplymphokinserum verglichen mit den Kontrollwerten. n = 13.
Zeit (h) nach der Auslösung der Reaktion.



Graphik 13:
Durchgezogene Linie: 0,1ml Antilymphokinserum 1:1
Gestrichelte Linie: 0,1ml Antilymphokinserum 1:10
Schraffierter Bereich: Kontrollwerte
Aufgetragen wurden die Histaminkonzentrationsverläufe in der Haut (µg/g) bei DNCB (0,05%)-induzierter Kontaktdermatitis unter Behandlung mit Antilymphokinserum und die entsprechenden Kontrollwerte.
Zeit (h) nach der Auslösung der Dermatitis.
n = 10.

Tab. 7:
Abweichung der Histaminkonzentration der Haut bei Verwendung von Antilymphozytenglobulin (ALG, 5mg), Antilymphokinserum 1:1 (a-Lyk 1:1) und Antilymphokinserum 1:10 (a-Lyk 1:10) vom Kontrollbereich. Die Zeit wird in h nach der Auslösung der Dermatitis durch 1%ige DNCB-Salbe angegeben.
Bewertungsschema siehe Legende Tab. 3.

DNCB 1%	2. h	4. h	6. h	10. h	24. h
ALG	O	O	O	O	O
a-Lyk 1:1	O	O	O	O	O
a-Lyk 1:10	O	O	O	O	↓

Tab. 8:
Abweichung der Histaminkonzentration der Haut bei Verwendung von Antilymphozytenglobulin (ALG, 5mg), Antilymphokinserum 1:1 (a-Lyk 1:1) und Antilymphokinserum 1:10 (a-Lyk 1:10) vom Kontrollbereich. Die Zeit wird in h nach der Auslösung der Dermatitis durch 0,05%ige DNCB-Salbe angegeben.
Bewertungsschema siehe Legende Tab. 3.

DNCB 0,05%	2. h	4. h	6. h	10. h	24. h
ALG	↓	↓	O	O	↑↑
a-Lyk 1:1	↓	↓	O	O	↑
a-Lyk 1:10	↓	↓	O	O	↑↑

Der Einfluß von Antilymphokinserum auf die Histaminkonzentration der Haut während einer Dermatitis

Bei der Auslösung der Dermatitis mit 1%iger DNCB-Zubereitung

Wie beim Kontrollbereich fiel die Histaminkonzentration der Haut in den ersten Stunden bei Verwendung der 1:10 Verdünnung als auch bei Applikation der Stammlösung. Eine signifikante Abweichung des Histamingehaltes gegenüber den Kontrollwerten ließ sich über den gesamten beobachteten Zeitraum nicht feststellen (Graphik 12, Tab. 7).
Ebensowenig konnte ALG die Histaminkonzentration verglichen mit dem Kontrollbereich wesentlich verändern (Graphik 10, Tab. 7).
Lediglich bei Verwendung von Antihistaminika (Graphik 5, Tab. 4), beonders bei Cimetidin (H_2), konnte in der zehnten Stunde nach der Auslösung der Dermatitis ein deutlich höherer Histamingehalt der Haut festgestellt werden.

Bei Einleitung der Reaktion mit 0,05%iger DNCB-Salbe

Die Stammlösung und die 1:10 Verdünnung des Antilmphokinserums führten zu einer ähnlichen Veränderung der Histaminkonzentration der Haut. Nach zwei Stunden konnte ein starker Abfall des Histamingehaltes gemessen werden, der weit unter dem Niveau der Kontrollwerte lag. Danach nahm der Histamingehalt wieder zu, erreichte nach acht Stunden den Kontrollbereich und überstieg diesen bis zur 24. Stunde nach dem Beginn der Dermatitis deutlich (Graphik 13, Tab. 8).

Eine Veränderung der Histaminkonzentration der Haut in diesem Sinne konnte auch bei der Verwendung des Antilymphozytenglobulins (ALG) beobachtet werden (Graphik 11, Tab. 8).
Das Antihistaminikum Cimetidin (H_2-Rezeptorenblocker) bewirkte bereits vier Stunden nach der Auslösung der Dermatitis durch DNCB (0,05%) einen bleibenden Anstieg der Histaminkonzentration über den Kontrollbereich hinaus (Graphik 6, Tab. 5).

2. Histologie

Von allen untersuchten Tieren wurden histologische Präparate hergestellt, um die Intensität des Entzündungsablaufes zu beurteilen und festzustellen, ob eine Dermatitis im Sinne einer allergischen oder toxischen Reaktion vorlag.

2.1. Das histologische Bild eines Normalbefundes der Meerschweinchenhaut

Die unbehandelte Meerschweinchenhaut (Bild 1) zeigte eine scharfe Abgrenzung der Epidermis von der Kutis. Zur Basalmembran hin zunehmend konnte man Epidermozyten mit scharf abgrenzbarem Nucleus und deutlichen Zellgrenzen erkennen. Die Epidermis war nicht ödematös verquollen.
Im lockeren Bindegewebe der Kutis fanden sich vereinzelt Infiltratzellen, im gesamten Ausschnitt etwa dreißig.
Die Hornlamellen waren zum Teil girlandenförmig von der Epidermis abgehoben.

2.2. Veränderungen in der Meerschweinchenhaut durch eine toxische Dermatitis

Unsere Untersuchungen zeigten, daß alle Dermatitiden, die durch 1%ige und 2%ige DNCB-Zubereitung hervorgerufen worden waren, einen toxischen Reaktionsablauf nahmen. In Bild 2 ist eine Dermatitis 12 Stunden nach dem Auftragen 1%iger DNCB-Salbe, in Bild 3 24 Stunden nach der Auslösung mit 2%iger DNCB-Lösung zu sehen.

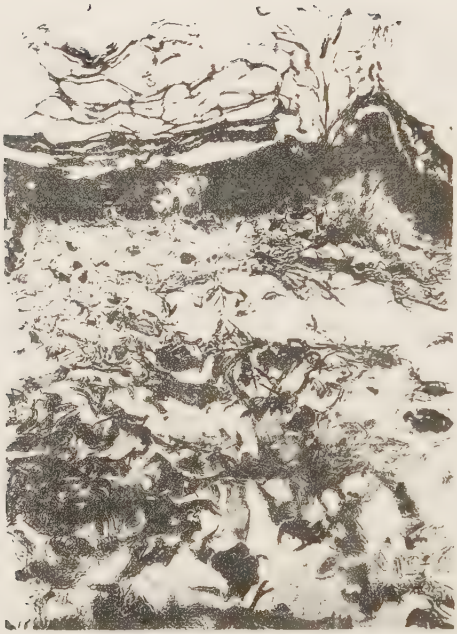


Bild 1:
Schnitt durch Meerschweinchenhaut mit abgehobenen Hornlamellen, Epidermis und Kutis, die fixationsbedingt etwas aufgelockert ist. (Normalbefund)
Vergr. 375fach

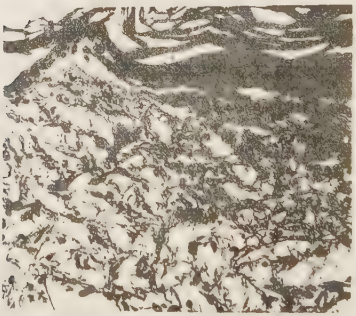


Bild 2:
Toxische Dermatitis nach der Applikation von 1%iger DNCB-Salbe. 12 Stunden nach dem Beginn der Dermatitis.
Vergr. 375fach

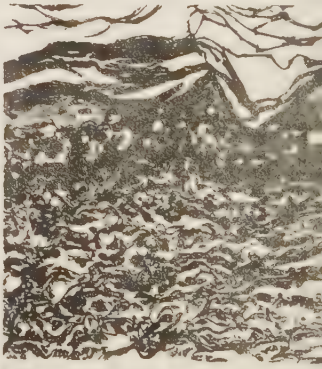


Bild 3:
Toxische Dermatitis 24 Stunden nach dem Auftragen 2%iger DNCB-Salbe.
Vergr. 375fach

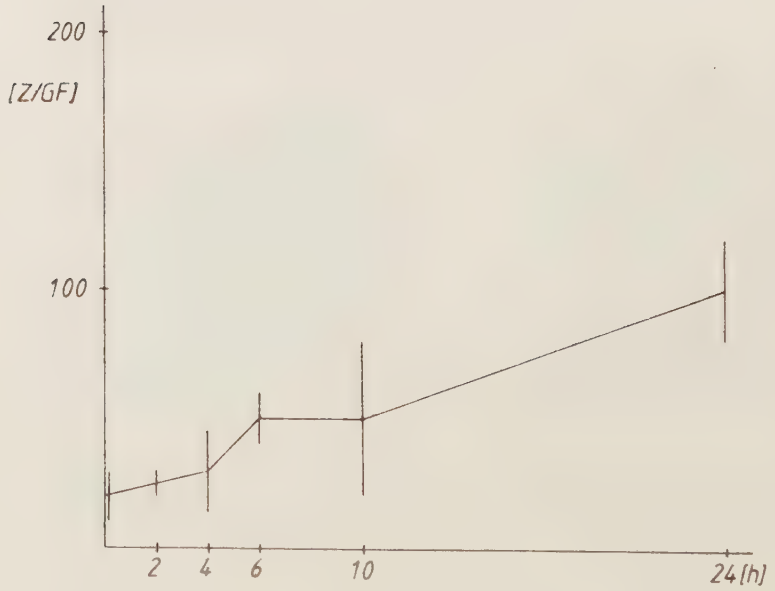
Bei der toxischen Dermatitis nahm die Dicke der Epidermis zu (Bild 3). 24 Stunden nach der Reizung der Haut mit 2%iger DNCB-Salbe waren Bläschen in der Epidermis und wohl aufgrund der Flüssigkeitszunahme eine Verbreiterung der Epidermis (Akanthose) zu beobachten. In der niedrigeren Konzentration (1% DNCB) war zwölf Stunden nach der Reizung ein schmaleres Epidermisband nachzuweisen (Bild 2 verglichen mit Bild 1). Jedoch konnte man unter der Basalmembran Bläschen erkennen, die zur Abhebung einer morphologisch anscheinend noch intakten Epidermis führten.
Eine Verbreiterung der Epidermis war bei anderen Präparaten mit dieser Vorbehandlung flüchtig aufgetreten. Deshalb mußte die Dicke der Epidermis als unzuverlässiges Zeichen für die Quantifizierung eines toxischen Geschehens gewertet werden.
Sowohl bei der Auslösung der Entzündung mit 2%iger DNCB-Salbe, als auch bei der Reizung der Haut durch 1%ige DNCB-Lösung ließen sich im Verlauf der Dermatitis dichte zellige Infiltrate nachweisen. Sie setzten sich zusammen aus Granulozyten, vor allem neutrophilen, Rundzellen und histiozytären Elementen. In der Literatur wird das Auftreten dichter Granulozyteninfiltrate als Kennzeichen für eine toxische Dermatitis angeführt (6, 7, 50, 55, 89).
Das entzündliche Infiltrat war die augenfälligste Erscheinung, die regelmäßig im Verlaufe der toxischen Dermatitis auftrat. Die Dichte dieses Infiltrates (Zellen/Gesichtsfeld, Z/GF) wurde deshalb dazu benutzt, den Verlauf einer toxischen Dermatitis zu beurteilen.

2.3. Die Zunahme des zellulären Infiltrates in der Kutis durch eine Hautreizung mit DNCB in toxischer Dosierung

Die beiden folgenden Graphiken (Graphik 14, 15) können als Kontrollwerte einer unbehandelt ablaufenden toxischen Dermatitis der Meerschweinchenhaut betrachtet werden.

2.3.1. Die Auslösung der Dermatitis mit 1%iger DNCB-Salbe

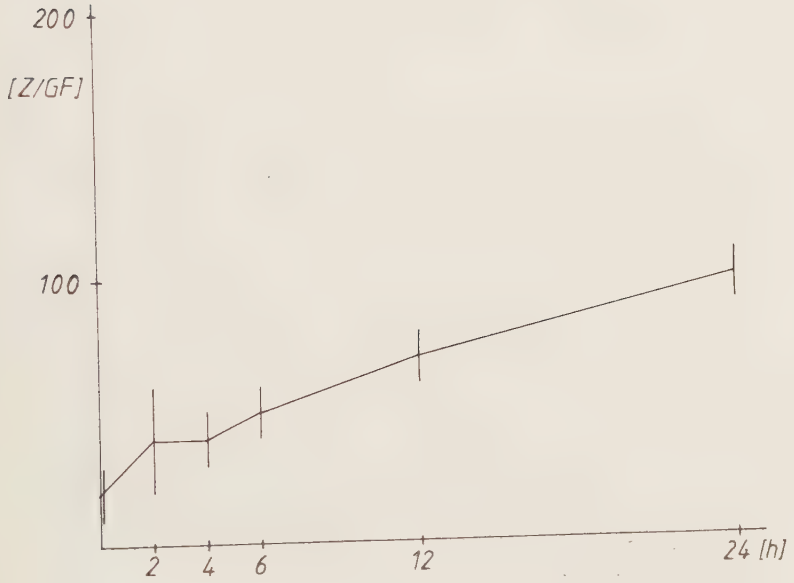
Die Infiltratzelleneinwanderung nahm nach der Auslösung der Reaktion (DNCB 1%) abgesehen von einer Stagnation zwischen der sechsten und zehnten Stunde nach der Einleitung beständig zu. Aufgefallen war der relativ starke Anstieg zwischen der vierten und sechsten Stunde (Graphik 14).



Graphik 14:
Änderung der Zahl der Infiltratzellen/Gesichtsfeld (Z/GF) bei 400facher Vergrößerung in der Kutis. Die Zeit wird in Stunden (h) nach der Auslösung der Dermatitis mit 1%iger DNCB-Konzentration angegeben. n = 13.

2.3.1. Die Auslösung der Dermatitis mit 2%iger DNCB-Salbe

Die 2%ige DNCB-Lösung bewirkte bis zur zweiten Stunde nach der Auslösung einen raschen Zustrom von Infiltratzellen. Darauf folgte eine Phase der Stagnation, dem sich ein mäßiger, aber kontinuierlicher Anstieg der Zelleinwanderung anschloß (Graphik 15).



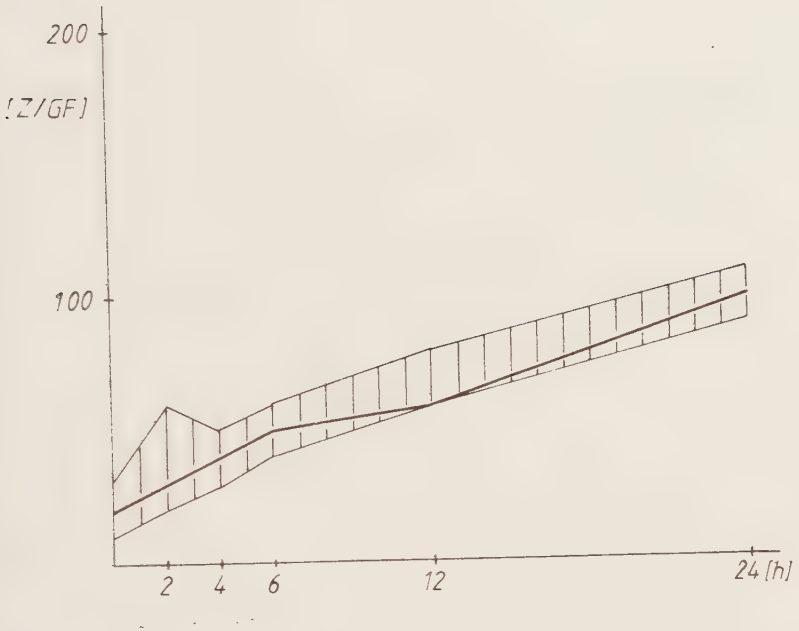
Graphik 15:
Zuname der Infiltratzellen in der Kutis (Z/GF) im Verlauf einer toxischen Dermatitis (DNCB 2%). Die Dichte wird bezogen auf ein Gesichtsfeld bei 400facher Vergrößerung (Fläche 0,16mm^2). Die Zeit wird in Stunden (h) nach der Auslösung der Dermatitis durch das Aufbringen des Agens angegeben.
n = 8.

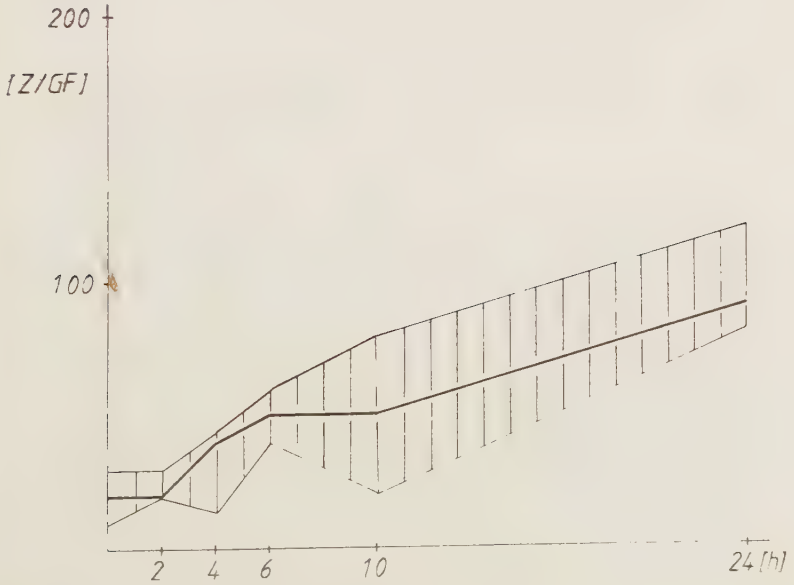
Die Dichte der Infiltratzellen stieg bei den Dermatitiden, die durch die beiden DNCB-Konzentrationen hervorgerufen worden waren, annähernd gleichmäßig an. Bei der Reaktion auf die 2%ige DNCB-Salbe war jedoch zu Beginn der Dermatitis eine raschere Einwanderung der Infiltratzellen in die Kutis festzustellen. Nach 24 Stunden wurden bei beiden Reaktionen gleichhohe Werte (100 Z/GF) erreicht.

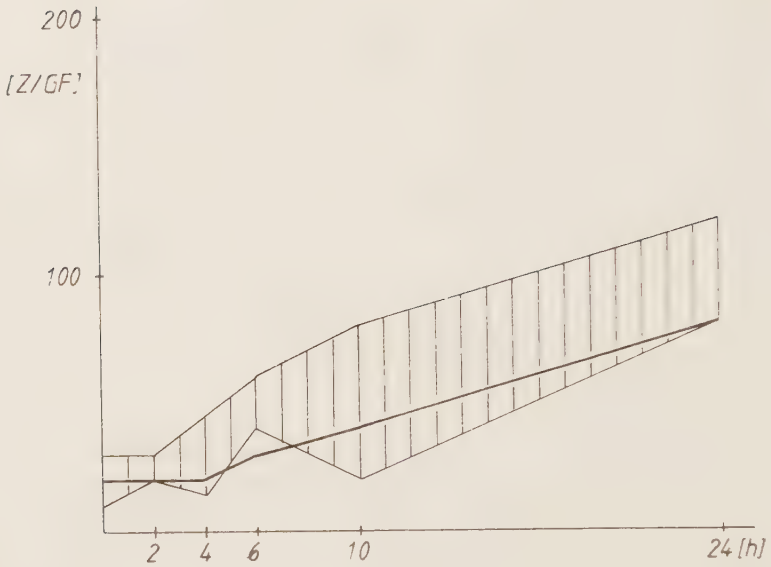
2.4. Der Einfluß von Antihistaminika auf die Einwanderung von Infiltratzellen in die Kutis bei der toxischen Dermatitis

Unsere Untersuchungen ergaben, daß die Einwanderung von Infiltratzellen in die Kutis des Meerschweinchens im Verlauf einer DNCB-induzierten toxischen Dermatitis durch Antihistaminika nicht gehemmt werden konnte.
Bei Verwendung von 0,04mg Clemastin (H_1-Rezeptorenblokker) (Graphik 16) ließ sich ebensowenig eine Abweichung der Resultate vom Kontrollbereich feststellen wie bei Anwendung eines Gemisches von 5mg Cimetidin (H_2-Rezeptorenblocker) und 0,02mg Clemastin (H_1-Rezeptorenblokker) (Graphik 17).
Lediglich bei der Applikation von 5mg Cimetidin alleine ließ sich sechs Stunden nach der Einleitung der Dermatitis - bei einem ansonsten dem Kontrollbereich entsprechenden Verlauf - eine geringgradig niedrigere Infiltrationsdichte nachweisen (Graphik 18).

Graphik 16 (auf der folgenden Seite):
Vergleich der Infiltratdichte (Zellen/Gesichtsfeld) ($0,16mm^2$) Z/GF) bei Verwendung von 0,04mg Clemastin intrakutan mit den Kontrollwerten (schraffierter Bereich) im Verlauf einer toxischen Dermatitis (DNCB 2%). Zeit in h nach der Einleitung der Entzündungsreaktion. n = 8.


200
[Z/GF]
100
2
4
6
12
24 [h]


200
[Z/GF]
100
2
4
6
10
24 [h]

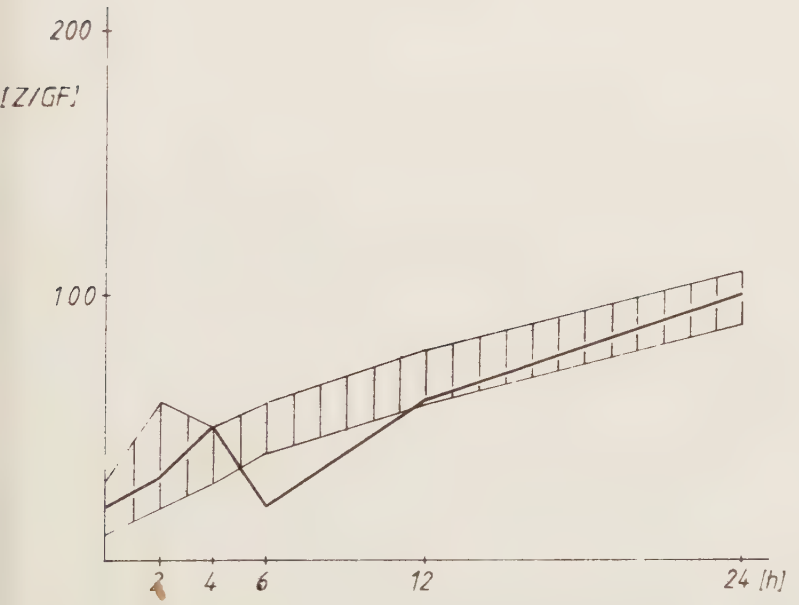


Graphik 18:
Veränderung der Infiltratzellendichte (Z/GF (0,16mm^2)) durch 5mg Cimetidin intrakutan bei toxischer Dermatitis (DNCB 1%).
Kontrollwerte: Schraffierter Bereich.
Zeit in Stunden (h) nach der Auslösung der Dermatitis.
n = 13.

Graphik 17 (vorhergehende Seite):
Die Einwanderung von Entzündungszellen in die obere Kutis (Zellen/Gesichtsfeld (0,16mm^2) Z/GF) bei unbehandelten Kontrolltieren (schraffierter Bereich) verglichen mit Tieren, denen ein Gemisch aus 5mg Cimetidin und 0,02 mg Clemastin in die untersuchten Hautbezirke appliziert worden ist. Zeit in Stunden (h) nach dem Aufbringen 1%iger DNCB-Salbe.
n = 13.

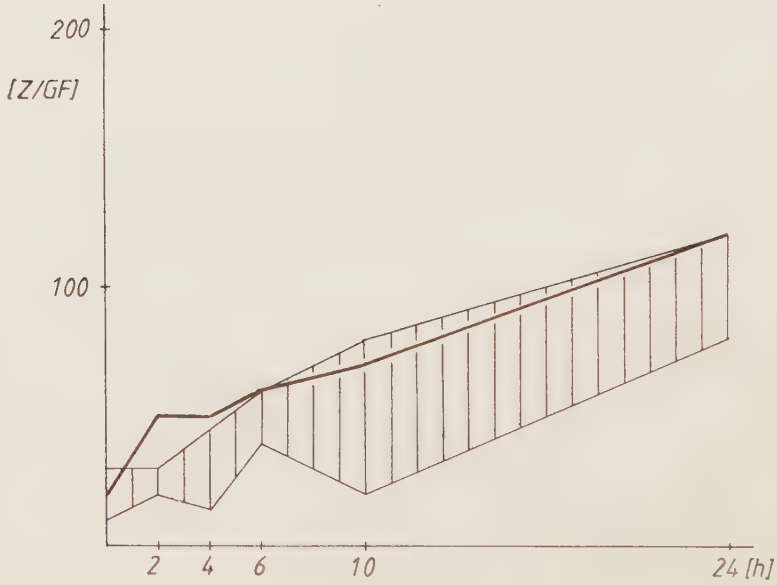
2.5. Die Einwanderung von Infiltratzellen bei DNCB-induzierter toxischer Dermatitis unter dem Einfluß von Antilymphozytenglobulin (ALG)

Der Verlauf der Infiltratzelleneinwanderung in die obere Kutis während einer toxischen Dermatitis entsprach auch bei der intrakutanen Instillation von 5mg ALG in großen Zügen der Einwanderungskinetik bei den Kontrollwerten (Graphik 19/20).



Graphik 19:
Abhängigkeit der Infiltratzellendichte (Z/GF ($0{,}16mm^2$)) von der Zeit (h) nach der Einleitung der Dermatitis durch Aufbringen 2%iger DNCB-Salbe. Verglichen wurden Hautbezirke, die mit 5mg Antilymphozytenglobulin unterspritzt worden waren, mit unbehandelten Kontrollbereichen (schraffierter Bezirk).
n = 8.

Im Verlaufsdiagramm der Dermatitis nach Reizung der Haut mit 2%iger DNCB-Zubereitung konnten wir bei der Verwendung von ALG (5mg) sechs Stunden nach der Einleitung der Entzündungsreaktion eine im Vergleich zu den Kontrollwerten geringere Zahl von Infiltratzellen feststellen. Dieses Minimum im Diagramm entstand durch Abfallen der Zelldichte von der vierten bis zur sechsten Stunde, dem



Graphik 20:
Die Infiltratzellendichte (Z/GF (0,16mm^2)) in der oberen Kutis bei intrakutaner Applikation von 5mg Antilymphozytenglobulin (ALG) während der Ausbildung einer DNCB (1%)-induzierten toxischen Dermatitis.
Schraffierter Bereich: Kontrollwerte
Zeit in Stunden (h) nach der Einleitung der Dermatitis.
n = 13.

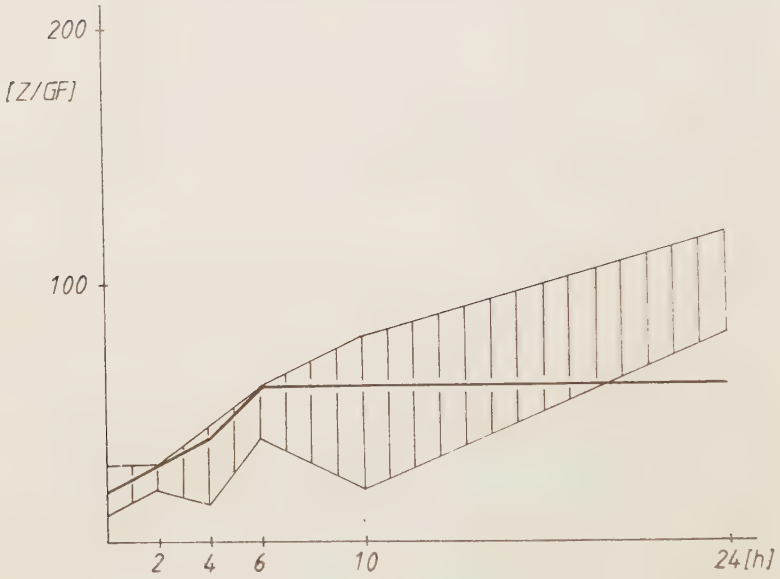
jedoch ein kontinuierlicher Anstieg der Zelleinwanderung in den Kontrollbereich folgte (Graphik 19).

Bei der Auslösung der Dermatitis durch die 1%ige DNCB-Salbe bewirkte das Antilymphozytenglobulin bis zur vierten Stunde eine schnellere Einwanderung der Infiltratzellen in den entzündlich veränderten Hautbezirk als bei den Kontrollwerten. Die im folgenden Zeitraum beobachtete Kinetik lag im oberen Grenzbereich der Kontrollwerte. Im gesamten Verlauf konnte ein kontinuierlicher Anstieg der Infiltratzellendichte festgestellt werden (Graphik 20).

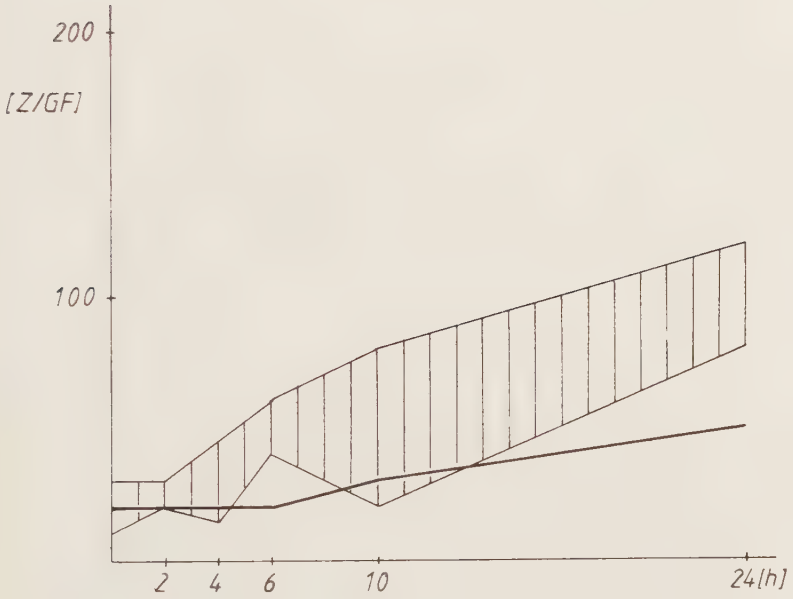
2.6. Die Auswirkung von Antilymphokinserum auf die Einwanderungskinetik von Infiltratzellen in die obere Kutis während einer toxischen Dermatitis

Die 1:10 Verdünnung des Antilymphokinserums verhinderte die Einwanderung von Infiltratzellen in die obere Kutis in den ersten Stunden während der Ausbildung einer - histologisch gesicherten - toxischen Dermatitis (DNCB 1%) nicht. Die Einwanderungskinetik glich bis zur sechsten Stunde nach der Einleitung der Entzündungsreaktion durch Bestreichen der Meerschweinchenhaut mit der DNCB-Salbe der, die wir bei den Kontrolltieren feststellten. Das zelluläre Infiltrat bestand zum größten Teil aus neutrophilen Granulozyten und Rundzellen. Vereinzelt wurden im späteren Verlauf auch eosinophile Granulozyten beobachtet. Nach der sechsten Stunde konnte kein weiterer Zustrom von Infiltratzellen nachgewiesen werden,

wohingegen bei den Kontrolltieren im Vergleichszeitraum ein Anstieg der Infiltratzelldichte eingetreten war. Deshalb war die nach 24 Stunden ermittelte Zelldichte bei Verwendung des 1:10 verdünnten Antilymphokinserums geringer als bei den Kontrolltieren (Graphik 21).



Graphik 21:
Vergleich der Einwanderung von Infiltratzellen (Zellen/Gesichtsfeld (0,16mm^2) Z/GF) in die obere Kutis bei Verwendung von Antilymphokinserum 1:10 verdünnt mit den Kontrollwerten (schraffierter Bereich) während einer DNCB(1%)-induzierten toxischen Dermatitis.
Zeit in Stunden (h) nach der Einleitung der Entzündungsreaktion.
n = 13.



Graphik 22:
Einfluß von Antilymphokinserum (unverdünnt) auf die Einwanderung von Infiltratzellen (Zellen/Gesichtsfeld (0,16mm^2) Z/GF) in die obere Kutis während einer DNCB(1%)-induzierten toxischen Dermatitis beim Meerschweinchen. Zum Vergleich sind die Kontrollwerte eingezeichnet (schraffierter Bereich).
Zeit in Stunden (h) nach der Einleitung der Dermatitis.
n = 13.

Das unverdünnte Antilymphokinserum verminderte den Zustrom von Infiltratzellen in das enzündete Hautgebiet verglichen mit den Kontrollwerten. Bis zur sechsten Stunde nach der Auslösung unterblieb ein Zustrom von Infiltratzellen in das gereizte Gebiet. Danach erfolgte ein mäßiger Anstieg der Zahl der zu beobachtenden Entzündungszellen. Die Infiltrationsdichte blieb über den gesamten Zeitraum gering (Graphik 22). Im Vergleich zur 1:10 Verdünnung (Graphik 21) war der Hemmeffekt bei der unverdünnten Stammlösung (Graphik 22) stärker, so daß wir für die Hemmung der Einwanderung eine Abhängigkeit von der Dosis der applizierten Antikörper annehmen.

Die Typisierung der Zellen im HE-Schnitt ergab das für die toxische Dermatitis charakteristische Bild: Im Vordergrund standen neutrophile Granulozyten. Daneben konnten wir Rundzellen beobachten.
Das Ödem der Epidermis (Akanthose) wurde durch die Antilymphokinserum-Gabe nicht verhindert. Wir konnten auch erkennen, daß die Zellkerne in der Epidermis geschrumpft waren (Kernpyknose), manchmal jedoch auch aufgequollen, und intraepidermal Bläschen sich ausbildeten. 24 Stunden nach Beginn der toxischen Dermatitis beobachteten wir in der Epidermis Nekrosen. Das zelluläre Infiltrat hatte sich von den perivaskulären Schichten zur Basalmembran verlagert, aber es konnten nur wenige Infiltratzellen in die Epidermis eindringen ("Anstehen der Infiltratzellen vor der Basalmembran").

2.7. Zeitlicher Ablauf der DNCB(0,05%)-induzierten allergischen Kontaktdermatitis im histologischen Bild

Das Bestreichen der Meerschweinchenhaut mit 0,05%-iger DNCB-Salbe führte zu einer allergischen Kontaktdermatitis. 14 Tage vor der Auslösung der Reaktion waren die Tiere sensibilisiert worden (Tab. 1). Nach zwei, vier, acht und 24 Stunden wurden Präparate gewonnen. Eine quantitative Bestimmung der Infiltratdichte, wie sie bei der toxischen Dermatitis erfolgte, schien hier nicht sinnvoll.
Nach Bandmann (7) beginnt eine allergische Kontaktdermatitis mit einer anfangs umschriebenen, basal vorhandenen, später auf die gesamte Epidermis übergreifende interzelluläre, ödematöse Auflockerung (Spongiose). Gelegentlich bilden sich spongiotische Bläschen. Diesem Stadium schließt sich eine Verbreiterung der Epidermis an (Akanthose). Die Entzündungszellen, die bei der allergischen Reaktion auftreten, sind Lymphozyten, Histiozyten und Monozyten (6, 7, 16, 19, 50, 55, 89).
Im folgenden sollen die wesentlichsten Änderungen kurz beschrieben werden.

Zwei Stunden nach der Einleitung der Dermatitis:
Im perivaskulären Gebiet des Korium wurde noch keine Zunahme von Infiltratzellen festgestellt. Einige monozytären Zellen, die nahe der Basalmembran im lockeren Bindegewebe lagen, waren von einer Vakuole umgeben. Den Zellen der Epidermis lagen zum Teil sichelförmig gedrängte Bläschen an (Spongiose). Die meisten dieser spongiotischen Bläschen lagen in der Nähe der Basalmembran.

Vier Stunden nach der Einleitung der Dermatitis:
Die Extravasation monozytärer Zellen aus den Gefäßen des Koriums hatte eingesetzt. Die Zelltypisierung ergab Lymphozyten und Monozyten (Enzymfärbung (20), Dissertationsschrift von Fr. Tan, in Vorbereitung), die um die Gefäße angehäuft waren, jedoch eine Wanderungstendenz in Richtung Basalmembran aufwiesen. Inzwischen hatten sich die sichelförmigen Bläschen um die Zellen der Epidermis zu ringartigen Gebilden vergrößert. Einige Zellen waren aufgetrieben und zeigten eine verwaschene Struktur mit schwach färbbaren nukleären Elementen. Die Basalmembran ließ sich noch scharf erkennen.

Acht Stunden nach der Auslösung der Reaktion:
Der Zustrom monozytärer Zellen aus den Gefäßen nahm weiter zu. Vielfach waren kleine Lymphozyten zu erkennen, die in das umliegende Gewebe einwanderten. In der Epidermis nahm die Zahl der Bläschen zu. Zum Teil konfluierten sie und führten zu intraepidermalen Spaltbildungen, die gelegentlich subkorneal lagen, jedoch häufiger über der Basalmembran. Das lokkere Bindegewebe der oberen Kutis wurde auseinandergedrängt von ödematöser Flüssigkeit, in die Lymphozyten eingelagert waren.

24 Stunden nach der Auslösung:
Die Epidermis fiel durch eine Verbreiterung auf (Akanthose). Weite Bereiche erschienen verwaschen in ihrer Struktur, die spongiotischen Bläschen verliefen. Ihre Flüssigkeit trug bei zu einer glasigen, diffusen Aufschwemmung der Epidermis. An der Basalmembran reihten sich großlumige Blasen auf. An diesen Stellen traten Lymphozyten in die Epidermis ein. Sie waren nach kurzer Wegstrecke von Flüssigkeitshöfen umgeben. Im Bindegewebe des Koriums waren Infiltrationszellen diffus verteilt.

2.8. Der Einfluß von Antilymphozytenglobulin auf den Ablauf einer allergischen Kontaktdermatitis

In den ersten Stunden unterschieden sich die Veränderungen in der Meerschweinchenhaut nicht von denen, die wir bei den Leerwerten beobachten konnten. Vier Stunden nach der Auslösung traten, zuerst perivaskulär, Lymphozyten und mononukleäre Zellen auf. Unter diese waren neutrophile Granulozyten gemischt, die wir vorher nur bei der toxischen Dermatitis sehen konnten. Die Epidermis zeigte allergietypische Veränderungen wie intraepidermale Bläschen, ödematöse Verquellung und beginnende Degeneration der Basalmembran. Im folgenden Zeitraum schritten die Veränderungen in der Epidermis fort, wie wir sie bei den Leerwerten beobachten konnten. Im Korium erschienen weiterhin sowohl allergietypische (Lymphozyten, Monozyten), als auch für eine toxische Dermatitis charakteristische (Granulozyten) Infiltratzellen. Nach 24 Stunden war die Epidermis nicht mehr deutlich strukturiert. Spongiotische Bläschen traten sowohl subkorneal, als auch an der Basalmembran auf. An manchen Stellen konnten dort, wo die Basalmembran zu vermuten war, langgestreckte Flüssigkeitsräume beobachtet werden, die eine Abhebung der Epidermis vom Korium einleiteten. Im lockeren Bindegewebe des Koriums zeigte sich ein buntes Zellbild mit Lymphozyten, Monozyten, Makrophagen (Nachweis durch Enzymfärbung (20), Dissertationsschrift von Fr. Tan, in Vorbereitung) und Granulozyten. Das Korium erschien ödematös aufgequollen. Auch makroskopisch fiel bei der Gewinnung der Präparate eine gelatineartige Verdickung des Koriums auf.

2.9. Die Auswirkung eines Histamin H_2-Rezeptorenblockers (Cimetidin) auf den Ablauf einer allergischen Kontaktdermatitis

Zwei Stunden nach der Einleitung der Dermatitis mit 0,05%iger DNCB-Salbe und der intrakutanen Verabreichung von 5mg Cimetidin war die Epidermis normal strukturiert und gleichmäßig dick über den gesamten Verlauf.. An der Basalmembran zeigten sich keine Veränderungen. Im lockeren Bindegewebe des Koriums lagen vereinzelt Infiltratzellen in ähnlicher Verteilung wie beim Leerwertpräparat. Nach vier Stunden trieben sich die Zellen der Epidermis auf, besonders die Zellen, die nahe der Basalmembran lagen (Spongiose). Subbasal zwängte sich Flüssigkeit zwischen die lockere Anordnung der Bindegewebsfasern. Die Zahl der Infiltratzellen im Korium nahm vor allem perivaskulär zu. Die Degeneration der Epidermis schritt bis zur achten Stunde nach der Auslösung der Dermatitis weiter fort. Das Korium quoll durch das interstitielle Ödem stärker auf. Die Zahl der Infiltratzellen nahm nicht weiter zu. 24 Stunden nach Beginn der Dermatitis zeigte sich folgende Situation:
Die Epidermozyten waren sämtlich von Blasen umgeben, jedoch ließ sich noch keine Verbreiterung der Epidermis feststellen. Subbasal fanden sich geringe Flüssigkeitsansammlungen. Das Korium hatte sich zu einem normalen Erscheinungsbild zurückentwickelt. Die Einwanderung von Infiltratzellen in das Korium hielt sich in Grenzen.

2.10. Die Veränderung des Reaktionsablaufes einer allergischen Kontaktdermatitis durch Antilymphokinserum bei der Betrachtung unter dem Mikroskop

2.10.1. Durch die Verwendung von Antilymphokinserum 1:10 verdünnt

Die Epidermis zeigte zwei Stunden nach der Einleitung der Dermatitis und der intrakutanen Injektion von 0,1ml des 1:10 verdünnten Antilymphokinserums noch keine Veränderungen im Sinne eines allergischen Ekzems. Die Basalmembran war intakt. Im Bindegewebe des Koriums erschienen perivasikulär Lymphozyten und Monozyten. Nach vier Stunden entstanden in der Epidermis halbmondförmige Bläschen um die Zellen, die nahe der Basalmembran gelegen waren (Spongiose). Die Basalmembran selbst blieb integer. Im Korium breitete sich zwischen den Bindegewebsfasern ein Ödem aus. Die Zahl der Infiltratzellen nahm weiter zu, jedoch konnten wir eine Wanderung dieser Zellen von den Gefäßen in Richtung zur Basalmembran feststellen. Bis zur achten Stunde quoll die Epidermis weiter auf (Akanthose). Infiltratzellen durchdrangen an einigen Stellen die Basalmembran und wanderten in die Epidermis ein. Im Korium hatte sich die Situation gegenüber dem Präparat zur vierten Stunde nicht verändert. Die Epidermis nahm bis zur 24. Stunde nach der Auslösung der Reaktion weiterhin an Dicke zu. Zum Teil waren noch Bläschen zu erkennen. Im Korium lagen gleichmäßig verteilt wie beim Leerwert Infiltratzellen, Lymphozyten, Monozyten und Makrophagen (Enzymfärbung (20), Dissertationsarbeit von Fr. Tan, in Vorbereitung). Die allergische Kontaktdermatitis konnte durch 0,1ml der 1:10 Verdünnung von Antilymphokinserum nicht verhindert werden.

2.10.2. Durch die Applikation von Antilymphokinserum unverdünnt

Zwei Stunden nach der Einleitung der Dermatitis und der gleichzeitigen intrakutanen Injektion von 0,1ml Antilymphokinserum waren in der Epidermis noch keine Veränderungen festzustellen. Das Korium wurde gleichmäßig durchsetzt von einer geringen Zahl von Infiltratzellen, die wir auch beim unbehandelten Tier ohne Auslösung einer Dermatitis sehen konnten. Bis zur vierten Stunde änderte sich das Bild. In der Epidermis traten Bläschen auf, die die Zellen teils halbmond-, teils ringförmig umgaben (Spongiose). Die Zellen nahe der Basalmembran waren am stärksten betroffen. Die Basalmembran war weiterhin intakt. Im Korium breitete sich ein Ödem aus. Wir konnten zu diesem Zeitpunkt noch keine Einwanderung von Infiltratzellen erkennen. Auch bis zur achten Stunde blieb die Exsudation von Entzündungszellen in dieses Gebiet verglichen mit dem Leerwert gering, jedoch konnten wir eine geringfügige Zunahme gegenüber dem 4-Stunden-Präparat erkennen. In der Epidermis schritt die Blasenbildung weiter fort. Auch die Basalmembran war nicht mehr scharf zu erkennen. An ihrer Stelle bildeten sich Bläschen, die die Epidermis vom Korium abhoben.
Die Dermatitis nach 24 Stunden:
Die Epidermis nahm bis zu diesem Zeitpunkt an Dicke zu (Akanthose). Die Bläschen um die Epidermozyten zerflossen und führten zu einer Aufquellung der Epidermis. Die Basalmembran ließ sich nicht mehr deutlich abgrenzen. Uns fiel auf, daß die Zahl der Infiltratzellen im Korium trotz der allergietypischen Veränderungen in der Epidermis gering blieb.

In Tab. 9 wurden in einer Übersicht die Veränderungen der Epidermis beim Ablauf einer allergischen Kontaktdermatitis festgehalten.

DNCB 0,05%	2h	4h	8h	24h
Leerwert	0/+	+	+	++
Cimetidin	0	+	+	++
Antilymphozyten-globulin	0/+	+	+/++	++
Antilymphokin-serum 1:10	0	+	+/++	++
Antilymphokin-serum 1:1	0	+	+	++

Tab. 9:
Übersicht über die Veränderungen der Epidermis (Zeit in h) beim Ablauf einer allergischen Kontaktdermatitis (DNCB 0,05%). Mit dem Leerwert werden Reaktionen verglichen, die durch intrakutane Injektion von 5mg Cimetidin, 5mg Antilymphozytenglobulin, 0,1ml Antilymphokinserum 1:10 verdünnt oder Antilymphokinserum 1:1 beeinflußt worden sind.
Bewertungsschema:

0	=	keine Veränderungen
+	=	Spongiose
+ +	=	Spongiose und Akanthose
+ + +	=	Nekrose

D. DISKUSSION

Durch unsere Versuche konnten wir zeigen, daß im Verlauf einer DNCB-induzierten Kontaktdermatitis ein Antilymphokinserum die Einwanderung von Infiltratzellen in das Korium hemmt. Dieser Effekt war abhängig von der Menge der applizierten Antikörper und wurde festgestellt bei der toxischen Dermatitis und beim allergischen Ekzem. Dagegen wurde die Degeneration der Epidermis nicht verhindert. Der Gewebehistaminspiegel bei der toxischen Dermatitis wurde durch die Applikation des Antilymphokinserums nicht beeinflußt. Im Gegensatz dazu beobachteten wir beim allergischen Ekzem eine Abweichung von den Kontrollwerten. Zu Beginn sank die Histaminkonzentration stark ab und stieg dann wieder an, einem Verhalten, das wir auch bei toxischen Reaktionen sahen. Wir vermuten deshalb eine Reizung der Meerschweinchenhaut durch das Fremdserum.

Durch Antihistaminika wurde der Gewebehistaminspiegel beeinflußt. Der H_1-Rezeptorenblocker Clemastin führte zu einem massiven Anstieg des Histamingehaltes nach dem initialen Abfall, der bei der toxischen Dermatitis besonders ausgeprägt war. Der Anstieg nach dem initialen Abfall war bei alleiniger Verwendung eines H_2-Rezeptorenblockers (Cimetidin) größer als bei kombinierter Verwendung eines H_1- und eines H_2-Rezeptorenblockers. Bei der allergischen Kontaktdermatitis erzeugte Cimetidin (H_2-Blocker) einen signifikanten Anstieg des Histamingehaltes der Meerschweinchenhaut. Die Einwanderung von Infiltratzellen in das Korium und makroskopisch sichtbare Effekte einer DNCB(2%, 1%, 0,05%)-induzierten Kontaktdermatitis konnten durch Antihistaminika nicht gehemmt werden.

Die Histaminkonzentration der Meerschweinchenhaut veränderte sich bei der toxischen Dermatitis (DNCB 2%, 1%) durch das Antilymphozytenglobulin nur geringfügig. Beim allergischen Ekzem wurde der Histamingehalt der Haut durch das Fremdserum beträchtlich beeinflußt. Es konnte ein Verlauf wie bei der Applikation des Antilymphokinserums beobachtet werden. Das Antilymphozytenglobulin förderte die Einwanderung von Infiltratzellen in das Korium. Dieser Effekt wurde mit fallender DNCB-Konzentration deutlicher.

Bei der nach histologischen Kriterien eingeteilten toxischen Dermatitis konnte zu Beginn ein rascher Abfall des Histamingehaltes der Meerschweinchenhaut festgestellt werden. Bei der allergischen Reaktion nahm dagegen der Gewebehistaminspiegel langsam ab. Nach einigen Stunden war bei allen Reaktionen, die nicht durch Testsubstanzen beeinflußt worden waren, ein Wiederansteigen der Histaminkonzentration erkennbar. In der Histologie fiel auf, daß bei der toxischen Reaktion zahlreiche Infiltratzellen einwanderten und zugleich in der Epidermis degenerative Veränderungen auftraten. Bei der allergischen Reaktion standen die Veränderungen in der Epidermis im Vordergrund, der Gehalt an Infiltratzellen im Korium blieb gering.

1. Die Bedeutung des Gewebehistaminspiegels

Durch unsere Methodik konnte das im Gewebe vorhandene Histamin nachgewiesen werden. Der Mediator lag entweder frei im Gewebe oder war in Mastzellen oder basophilen Leukozyten (67, 74) gespeichert. Ausgeschüttetes Histamin diffundiert ins Gewebe. Dort verbleibt es nur kurz. Histamin wird eliminiert durch Abbau oder Abdiffusion (Abb. 4).

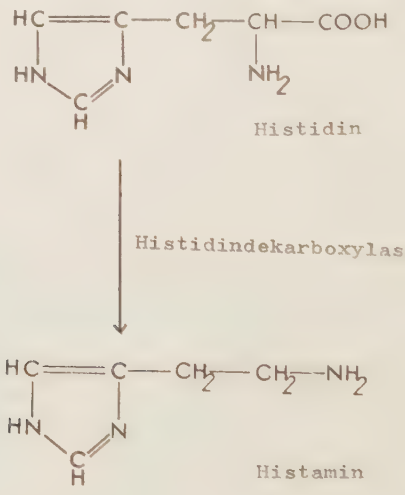


Abb. 4: Schematische Darstellung der Biosynthese und Elimination von Histamin.

Der größte Teil des von uns nachgewiesenen Histamins befand sich intrazellulär, konnte also noch freigesetzt werden. Weiterhin ging in die Konzentration des Histamingehaltes das Nativgewicht der Gewebeprobe ein. Ein hohes Gewicht durch Einlagerung von Ödemflüssigkeit im Verlauf der Entzündung verringerte den Wert des Gewebehistaminspiegels.

Ein Anstieg der Histaminkonzentration innerhalb von Stunden weist auf die Einwanderung von basophilen Leukozyten hin (67), da Mastzellen ortsständig bleiben, sich im Gewebe wahrscheinlich nicht vermehren und nicht in der Lage sind, innerhalb von Stunden größere Mengen Histamin neu aufzubauen. Durch radioaktive Markierung konnten Dvorak et al. nachweisen, daß innerhalb von 24 Stunden nur circa 20% einer normalen Histaminbeladung neusynthetisiert werden können (33). Fr. S. Tan (Dissertationsschrift, in Vorbereitung) konnte durch Enzymfärbung (20) zeigen, daß der in unseren Ergebnissen beobachtete Anstieg der Histaminkonzentration bei den Antihistaminika nach vier bis sechs Stunden im Verlauf der toxischen Dermatitis und zwei bis vier Stunden nach der Auslösung des allergischen Ekzems mit der Einwanderung basophiler Leukozyten zusammenfiel.

Auch den Anstieg des Gewebehistaminspiegels bei der Beeinflussung der Kontaktdermatitis durch Antilymphozytenglobulin und Antilymphokinserum konnten wir der Einwanderung basophiler Leukozyten zuordnen. Ein Vergleich der Ergebnisse der Histaminbestimmung mit den Beobachtungen bei der Bearbeitung der histologischen Präparate, die hergestellt wurden, um über die Kinetik der Entzündungsreaktion eine Aussage zu treffen, zeigte,daß durch Antihistaminika eine Kontaktdermatitis nicht unterdrückt werden konnte. Wir stimmen mit anderen Arbeitsgruppen darin überein, daß die Ausbildung einer entzünd-

lichen Veränderung der Haut nicht durch Manipulationen am Histaminhaushalt verhindert werden kann (67, 68, 79). Neben Histamin spielen andere Vorgänge eine Rolle bei der Entwicklung einer Kontaktdermatitis.
Hinweise für eine Beteiligung von Histamin im Verlauf einer Kontaktdermatitis fanden sich in den Arbeiten von Roupe et al. (80, 81). Sie sensibilisierten Mäuse gegen Pikrylchlorid (81). Nach Auslösung mit einer nicht toxischen Konzentration am Ohr stieg die Histaminausscheidung im Urin innerhalb der ersten 24 Stunden auf das Vierfache der Norm an. Sie erwähnten, daß 10 - 20% des Histamins in der freien Form ausgeschieden, der Rest verstoffwechselt würde (Abb. 4).
Allerdings hatte sich die Histaminkonzentration im getesteten Gebiet während der Reaktion im Gegensatz zu unseren Befunden nicht signifikant verändert. Das extreme Anwachsen freien Histamins während der Dermatitis erfolgte ihrer Meinung nach durch eine generelle Freisetzung im ganzen Körper infolge einer plötzlichen Überempfindlichkeitsreaktion ("immediate hypersensitivity") oder einer Anaphylatoxinformation nach Komplementaktivierung.
Die von Roupe et al. (81) beschriebene Freisetzung von Histamin ("sudden release") in der Auslösungsphase schlug sich in unseren Befunden nieder im Abfall des Gewebehistaminspiegels in den ersten Stunden, der bei der toxischen Kontaktdermatitis besonders stark ausgeprägt war.

2. Mechanismen der Histaminfreisetzung

Mastzellen und basophile Leukozyten enthalten neben anderen Mediatoren Histamin, die zusammen in Granula gespeichert sind. Zusammen mit Histamin werden bei der Degranulation SRS-A (Slow reacting substance of anaphylaxis), Serotonin, PAF (Platelet activation factors), chemotaktische Mediatoren, Heparin, Chymase und Kallikrein (95) ausgestoßen. Es sind mindestens vier Auslösungsmechanismen bekannt, die zur Induktion der Degranulation von Mastzellen und basophilen Leukozyten führen (Ring, 74):

1. Ig E-vermittelte Reaktion
2. C5a (Anaphylatoxin)
3. Direkte Ca^{++}-Aktivierung (Ca-Ionophore)
4. Sonstige: Direkte Liberatoren, "Histamin releasing Faktor"

Besonders interessant sind dabei die sogenannten Liberatoren, die durch direkte Beeinflussung der Zellwand zu einer Öffnung der Ca^{++}-Kanäle führen und damit die Histaminausstoßung einleiten. Auslöser sind unter anderen Proteine, Dextran, Gelatine, Anaesthetika, Kontrastmittel (75, 77), Compound 48/80 (21).

Thueson et al. (90, 91) konnten in vitro einen sogenannten "Histamin releasing Faktor" mit einem Molekulargewicht zwischen 10 000 und 15 000 Daltons durch Stimulation von Monozyten erzeugen. Er bewirkte eine Kalzium-abhängige Ausschüttung von Histamin aus basophilen Leukozyten. Die Entdecker halten diesen Faktor für ein Lymphokin.

Der Histaminausschüttung geht unter physiologischen Bedingungen eine kurzzeitige Öffnung der Ca^{++}-Kanäle in der Membran voraus. Der Einstrom führt zu einer Erhöhung der intrazellulären freien Ca^{++}-Ionen (56). Zusammen mit Adenosintriphosphat (ATP) bilden die Ca^{++}-

Ionen einen Komplex und ermöglichen unter Verbrauch der energiereichen Verbindung ATP eine Wanderung der Granula in Richtung Zellmembran. Beim Aneinandertreffen vereinigen sich die Membran des Granulums und der Zellwand, und der Granulumgehalt wird in den Interzellulärraum ausgestoßen (61). Dieser Vorgang hängt von der Verfügbarkeit von Energieträgern ab. Beim Fehlen von ATP erlischt die Histaminausschüttung (8). Eine Erhöhung der cAMP(zyklisches Adenosin-3-5-Monophosphat)-Konzentration in der Zelle behindert die Degranulation ("cAMP-Waage", 76). Der Vorgang der Exocytose läuft vom Ca^{++}-Einstrom ab gerechnet bis zur vollendeten Ausschüttung der Granula bei 37°C innerhalb von zehn Sekunden ab (21).
Ausgeschüttetes Histamin kann wahrscheinlich wieder in die Mastzelle aufgenommen werden. Dieser Vorgang kommt möglicherweise darin zum Tragen, daß Mastzellen praktisch nie ohne Histaminbeladung gefunden werden (sogenanntes non-secretory histamine) (61). Eine Wiederaufnahme spielt jedoch für den Gehalt der Mastzellen und basophilen Leukozyten an Histamin eine untergeordnete Rolle. Bis zu etwa 10% des Gesamtinhaltes einer Zelle können wieder aufgenommen werden (21).
Einer vollständigen Ausschüttung des Histamins wirken unter physiologischen Bedingungen die Histamin-H_2-Rezeptoren an den Membranen der Mastzellen und basophilen Leukozyten entgegen. Wenn diese Rezeptoren durch Histamin besetzt sind, wird die Ausstoßung der Granula durch eine Erhöhung des intrazellulären cAMP verhindert (76).
Dieser negative Feedback Mechanismus wird durch Histamin-H_2-Rezeptorenblocker ausgeschaltet (24).
Rocklin (78) konnte zeigen, daß Histamin verschiedene Reaktionen abblocken konnte, darunter auch Typ IV-Reaktionen (allergische Reaktionen vom Spättyp). Hista-

min-H_2-Rezeptorenblocker schalteten diese protektive Wirkung des Histamins aus, während dagegen Histamin-H_1-Rezeptorenblocker keinen Einfluß nahmen. Rocklin vermutet, daß dem Histamin bei der Entwicklung einer Kontaktdermatitis eine eher suppressive als induktive Wirkung zuzuschreiben ist.
Die Änderung der vaskulären Permeabilität während der Kontaktdermatitits ist unumstritten (67, 68). Jedoch müssen auch chemotaktische Stimuli anwesend sein, um eine Erhöhung der zellulären Extravasation in das Gebiet der Kontaktdermatitis zu ermöglichen (79).
Polak (68) vermutet, daß die Kontaktdermatitis durch eine kombinierte Aktion verschiedener Mediatoren induziert wird. Antihistaminika konnten die Entwicklung einer Kontaktdermatitis nicht unterdrücken (67, 68).
Unsere Ergebnisse bestätigen die Annahme von Polak. Eine übermäßige Histaminausschüttung zu Beginn der Reaktion nach der Applikation des Histamin-H_2-Rezeptorenblockers Cimetidin was ausgeblieben, besonders gut zu verfolgen in der Graphik 6.
Wir vermuten aufgrund unserer Untersuchungen, daß Histamin in der Frühphase der allergischen Kontaktdermatitis - neben anderen Faktoren - regulative Funktionen ausüben könnte.

3. Die Rolle der Lymphokine

Seit Dumonde et al. (27) 1968 den Begriff "Lymphokine" eingeführt haben, wurden große Anstrengungen unternommen, diese Substanzen zu erforschen. Die meisten Lymphokine sind Glykoproteine mit einem Molekulargewicht von 15 000 bis 60 000 Dalton (41). Diese Faktoren schließen vermutlich auch biologisch hochaktive Moleküle wie DNA- und RNA-Bruchstücke, Membranproteine und Interferone ein (92, 93). Als Lymphokine eindeutig erkannt und zugeordnet sind bis heute mitogene Faktoren (MF) (42), ein Faktor, der die Bewegung von Makrophagen (Macrophage migration inhibitory factor MIF) (25, 4, 41, 97, 99, 103) hemmt und chemisch unterscheidbar davon ein Lymphokin, das die Bewegung von Leukozyten verlangsamt (LIF) (10, 11, 12, 22, 102), ein Faktor, der die Bewegung von Makrophagen erhöht (MAF) (9), chemotaktische Faktoren (CF) (69, 92), die spezifisch mononukleäre Zellen, eosinophile und basophile Leukozyten anlocken, Lymphotoxine (LT) (29, 44) und sogenanntes Typ II Interferon.
Remold (71) gelang es, an der Makrophagenmembran spezifische MIF-Rezeptoren nachzuweisen.
In Abb. 5 und 6 sind die Eigenschaften einiger Lymphokine aufgeführt.
Die Vielzahl und die gelegentlich einander antagonisierenden Wirkungen der Lymphokine lassen ein komplexes Eingreifen dieser Faktoren in den Entzündungsablauf vermuten (63, 67, 96, 98, 99, 100).
Es ist gelungen, gegen einige Lymphokine Antikörper zu erzeugen (40, 41, 45, 46, 103). Geczy, Otz und de Weck (41) berichteten, daß sie Antikörper gegen MIF, LT und MF herstellen konnten.

	MF	MIF	MCF
Erzeugt von	vornehmlich T-Zellen	T- und B-Zellen	T- und B-Zellen
Molekulargewicht	20-40 000	20-30 000	12 500
Haltbarkeit in Lösungen bei 4°C	stabil	stabil	?
Erhitzen auf 56°C für 60 min	stabil?	stabil	stabil
Antikörper verfügbar	nein	ja	nein
Speziesspezifität	nein	nein	nein
Andere Eigenschaften		aufgebaut aus gleichartigen Untereinheiten?	

Abb. 5:
Vergleich der Eigenschaften einiger Lymphokine
(nach Bendtzen, (9))

Abkürzungen:

MF	Mitogener Faktor
MIF	Die Bewegung von Makrophagen hemmender Faktor
MCF	Chemotaktischer Faktor für Makrohpagen

	IDS	LT	Typ II Interferon
Erzeugt von	vornehmlich T-Zellen?	vornehmlich B-Zellen	T- und B-Zellen
Molekulargewicht	30-50 000	75-90 000	48-80 000
Haltbarkeit in Lösung bei 4°C	stabil	stabil	stabil
Erhitzen auf 56°C für 60 min	instabil	stabil	stabil
Antikörper verfügbar	nein	ja	nein
Speziesspezifität	nein	nein	ja
Andere Eigenschaften	reversibler Effekt nicht zytotoxisch	heterogen	heterogen

Abb. 6:
Vergleich der Eigenschaften einiger Lymphkine
(nach Bendtzen, (9))

Abkürzungen:
IDS Hemmer der DNA-Synthese
LT Lymphotoxin

Geczy et al. (40) konnten durch die intrakutane Injektion von 0,4ml Antilymphokinserum zusammen mit einer Unterdrückung der sichtbaren Dermatitis-Reaktion eine bemerkenswerte Reduktion mononukleärer Zellen in der Dermis und einen Rückgang des epidermalen Verletzungsgrades erreichen. Die Stärke der Reduktion hing ab von der Menge der applizierten Antikörper. Abb. 7 verdeutlicht den Zusammenhang mit der Antikörperkonzentration.

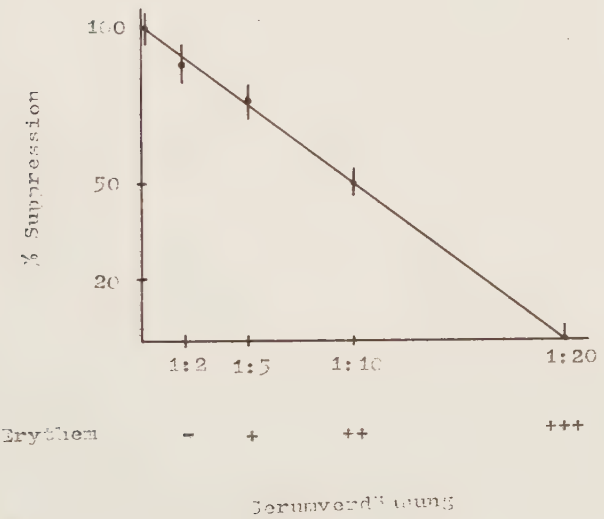


Abb. 7:
Prozentuale Reduktion der entzündlichen Induration in Abhängigkeit von der Konzentration des Antilymphokinserums (applizierte Menge jeweils 0,4ml).
(nach Geczy (40))

Bei unseren Versuchen wurden in der höchsten Konzentration nur ein Viertel der von Geczy et al. (40) verwendeten Antikörpermenge intradermal appliziert. Wir konnten feststellen, daß Antilymphokinseren in der Lage sind, die Einwanderung zellulärer Elemente zu vermindern. Die 1:10 Verdünnung des Serums zeigte gegenüber den Kontrollwerten keinen Effekt mehr, währenddessen die unverdünnte Lösung deutlich hemmend wirkte. Diese dosisabhängige Wirkung der Antilymphokine beobachteten wir bei der toxischen Dermatitis und beim allergischen Ekzem. Den von Geczy et al. (40, 45) erwähnten Rückgang des epidermalen Verletzungsgrades konnten wir nicht feststellen (Tab. 9). Ein Grund dafür könnte sein, daß für eine Hemmung der epidermalen Symptomatik höhere Antikörperdosen anzuwenden sind. Die Bedeutung der Lymphozytenprodukte für das zelluläre Infiltrat hob bei unseren Ergebnissen ein Vergleich der Wirkung des Antilymphokinserums mit der des Antilymphozytenglobulins auf den Ablauf der Kontaktdermatitis hervor. Antilymphokinserum reduzierte, Antilymphozytenglobulin erhöhte die Zahl der Infiltratzellen verglichen mit den Kontrollwerten. Da bei lokaler Anwendung des Antilymphozytenglobulins am Ort des Geschehens eine höhere Lymphokinkonzentration zu erwarten ist, vermuten wir einen direkten Zusammenhang zwischen der Infiltrationsdichte und der Lymphokinkonzentration. Jedoch konnten wir keinen Einfluß der Lymphokine auf die Ausbildung der epidermalen Symptomatik feststellen (Tab. 9). Entgegen unserer Beobachtung zeigte Polak (68), daß histologische Veränderungen wie Spongiose und Akanthose eine Reaktion auf die zelluläre Infiltration darstellen. Bei seinen Versuchen erzeugten leukopenische Meerschweinchen keine für die allergische Kontaktdermatitis typische Spongiose und Akanthose der Epidermis.

Wir beobachteten beim allergischen Ekzem einen starken Abfall des Gewebehistaminspiegels durch die intrakutane Applikation von Antilymphozytenglobulin und Antilymphokinserum (Graph. 11, 13). Erklären läßt sich dieser Effekt durch die von Thueson et al. (90, 91) beschriebene Produktion eines Histamin-releasing Faktors (HRF) nach Stimulation der Monozyten. Für eine Stimulation der Monozyten und eine Freisetzung des HRF könnte auch die von Geczy et al. (40, 45) beobachtete "toxische" Wirkung hochkonzentrierter Antilymphokinseren sprechen. Das von uns angewandte Antilymphokinserum enthielt wahrscheinlich keinen Antikörper gegen den Histamin-releasing Faktor.

4. Die Bedeutung der Sensibilisierung für das allergische Ekzem und die toxische Dermatitis

Die Voraussetzung für das Entstehen einer allergischen Kontaktdermatitis ist die Sensibilisierung des Organismus. Dabei spielen die Langerhanszellen in der Epidermis eine wichtige Rolle (47, 88). Sie nehmen das Allergen auf und präsentieren es den immunkompetenten Zellen. Lymphozyten schütten beim sensibilisierten Lebewesen nach Wiederkontakt mit dem Allergen am Ort der Einwirkung Lymphokine aus, die für die Modulation, die Unterhaltung und Verstärkung, wahrscheinlich auch die Unterdrückung der allergischen Reaktion durch Suppressorzellen (65) verantwortlich sind. Die Rolle der Lymphokine bei der toxischen Dermatitis ist noch ungeklärt. Jedenfalls ist für die Ausbildung einer toxischen Kontaktdermatitis eine Sensibilisierung des Lebewesens nicht nötig.

5. Die Unterscheidung einer allergischen von einer toxischen Kontaktdermatitis

Miescher (55) formulierte nach eingehenden morphologisch-klinischen und histologischen Untersuchungen Kriterien für die Unterscheidung einer toxischen von einer allergischen Dermatitis.
Für die toxische Reaktion sprechen mehr gleichförmige, häufig mit Nekrosen einhergehende Veränderungen mit scharfen, dem Läppchen entsprechenden Grenzen. Histologisch zeigen sich Nekrosen (umschriebene Achromien mit Kernpyknosen) und dichte Infiltrate aus polynukleären Leukozyten (Granulozyten).
Für allergische Reaktionen typisch sind Knötchen- und Bläschencharakter (bei fehlender Nekrose) mit ungleichmäßiger Verteilung auf der Testfläche und unscharfe Grenzen, die in der Regel die Testfläche überschreiten. Histologisch findet man Spongiose mit Bläschenbildung und ein Infiltrat bestehend aus Lymphozyten. Bandmann (7) schreibt, daß sich beim toxischen Ekzem innerhalb der ersten Stunde nach Expositionsbeginn zunächst das Stratum corneum netzartig auflöst. Intraepidermal bilden sich Hohlräume. Im Polarisationsmikroskop erkennt man, daß die Zellen ihre Interzellularbrücken verlieren. Die Zellkerne sind pyknotisch oder aufgequollen. Zum Teil wird der ganze Epithelkörper umschrieben nekrotisch. Im Korium erscheinen dichte zellige Infiltrate, die sich aus Granulozyten, Rundzellen und histiozytären Elementen zusammensetzen.
Das kontaktallergische Ekzem beginnt in der Epidermis mit einer basalen umschriebenen Spongiose und schreitet dann fort zu einer Verbreiterung der Epidermis (Akanthose). Korial erscheinen anfangs perivasikulär mäßige

zellige Infiltrate. Nur beim allergischen, nicht aber beim toxischen Ekzem erscheinen peroxydase-positive Monozyten.
Wir hielten uns in der Interpretation unserer Ergebnisse an die angeführten Unterscheidungsmerkmale. Eine toxische Dermatitis im klassischen Sinn entstand nach der Auslösung der Entzündung mit 2%iger und 1%iger DNCB-Lösung, währenddessen die 0,05%ige DNCB-Konzentration eine allergische Kontaktdermatitis hervorrief. Damit können wir die von Burg und Braun-Falco (18) angegebenen DNCB-Konzentrationen für die Auslösung einer toxischen und allergischen Kontaktdematitis bestätigen.
Bei der toxischen Dermatitis sahen wir ein Überwiegen der neutrophilen Granulozyten, bei der allergischen Reaktion hauptsächlich Lymphozyten in der Charakterisierung der Infiltratzellen. Außerdem fiel bei der toxischen Reaktion ein besonders dichtes Infiltrat auf, dem beim allergischen Ekzem zum gleichen Zeitpunkt eine geringe Zahl von eingewanderten Zellen gegenüberstand.
Bei den toxischen Dermatitiden stellten wir durchweg ein rasches Absinken des Gewebehistaminspiegels in den ersten Stunden nach der Auslösung fest. Dagegen sank der Histamingehalt des Gewebes bei der unbeeinflußten allergischen Kontaktdermatitis nur sehr langsam ab. Wir sind jedoch der Meinung, daß der Gewebehistaminspiegel für eine Unterscheidung einer toxischen von einer allergischen Kontaktdermatitis nicht geeignet ist. Unsere Untersuchungen zeigten, daß Histamin im Laufe der Kontaktdermatitis - wie zu erwarten war - freigesetzt wird. Sicher jedoch trifft die einfache Gleichung Histamin = Entzündung nicht zu, wenn man auch dem Histamin eine Mediatorfunktion

im Ablauf einer Kontaktdermatitis zuschreiben muß. Der von Dvorak (33) beschriebene Basophil chemotactic Factor, der im Ablauf einer allergischen Kontaktdermatitis ausgeschüttet wird, unterstreicht die Bedeutung von Histamin, da basophile Leukozyten als einzige Zellen neben den Mastzellen beim Menschen und beim Meerschweinchen Histamin freisetzen können. Weitere Untersuchungen müssen die Rolle des Histamins bei der Kontaktdermatitis aufklären.

E. ZUSAMMENFASSUNG

1. An vierzig sensibilisierten Meerschweinchen wurde durch intrakutane Injektion der pharmakologische Einfluß von Antilymphokinserum, Antilymphozytenglobulin und Antihistaminika auf die DNCB-induzierte, allergesche und toxische Kontaktdermatitis getestet.

2. Antilymphokinserum hemmte dosisabhängig die Einwanderung von Infiltratzellen in das Korium, konnte aber die Degeneration der Epidermis nicht verhindern. Das entzündliche Infiltrat wurde verstärkt durch Antilymphozytenglobulin. Antihistaminika (H_1- und H_2-Rezeptorenblocker) beeinflußten die Zahl der Infiltratzellen nicht.

3. Antihistaminika veränderten den Gewebehistaminspiegel. Der Anstieg der Histaminkonzentration nach dem initialen Abfall war bei Verwendung des H_2-Rezeptorenblockers steiler als der, der durch H_1-Rezeptorenblocker hervorgerufen wurde. Antilymphokinserum und Antilymphozytenglobulin führten beim allergischen Ekzem zu einem raschen Abfall der Histaminkonzentration in den ersten Stunden; bei der toxischen Dermatitis stellten wir aber kein Abweichen von den Kontrollwerten fest. Insgesamt betrachtet konnten wir zwischen dem Gewebehistaminspiegel und dem Ablauf des entzündlichen Geschehens keine Korrelation erkennen.

4. Am zuverlässigsten läßt sich eine toxische von einer allergischen Kontaktdermatitis anhand der klassischen histologischen Kriterien unterscheiden. Der Gewebehistaminspiegel als Verlaufsparameter ist dazu nicht geeignet.

F. LITERATUR

(1) ASKENASE P., HAYNES D., HAYDEN B.
Antibody-mediated basophil accumulations in cutaneous hypersensitivity reactions of guinea pigs.
J. Immunol. 117, 216-224 (1976)

(2) ASKENASE P.
Role of basophils, mast cells and vasoamines in hypersensitivity reactions with delayed time course.
Progr. Allergy 23, 199-320 (1977)

(3) BAER R., ROSENTHAL S.
Route of contact sensitization and in vitro lymphocyte transformation.
J. Invest. Dermatol. 70, 138-140 (1978)

(4) BAER R., VOGT K., LAZARY S., GECZY C., WECK A. L. de
Lymphokines. VI. Factors in human and other heterologous sera inhibiting the migration of guinea pig macrophages.
Z. Immunforsch. Immunbiol. 155, 130-143 (1978)

(5) BANDMANN H.-J., DOHN W.
Die Epicutantestung. S. 128-129,
München: J. F. Bergmann 1967

(6) BANDMANN H.-J.
Monozyten bei experimentellem Kontaktekzem.
Hautarzt 18, 122-133 (1967)

(7) BANDMANN H.-J.
Das histologische Bild der kontaktallergischen und alkalitoxischen Ekzeme.
Therap. Umsch. 27, 488-495 (1970)

(8) BATCHELOR K., COOPER P., STANWORTH D.
The possible role of membrane located adenosine triphosphatases in mast cell triggering.
In: The mast cell (J. Pepys, A. Edwards eds.), pp. 47-52, Pitman Medical Publishing Co. Ltd., Kent, England, 1979

(9) BENDTZEN K.
Some physikochemical properties of human leucocyte migration inhibitory factor (LIF).
Acta Pathol. Microbiol. Scand. 84, 471-476 (1976)

(10) BENDTZEN K.
Human leucocyte migration inhibitory factor (LIF). I. Effect of synthetic and naturally occuring esterase and protease inhibitors.
Scand. J. Immunol. 6, 125-131 (1977)

(11) BENDTZEN K.
Human leucocyte migration inhibitory factor (LIF). II. Partial biochemical characterization of the substrate specificities for this lymphokine.
Scand. J. Immunol. 6, 133-140 (1977)

(12) BENDTZEN K.
Human leucocyte migration inhibitory factor (LIF). III. Further investigations on the serine protease nature of this lymphokine and its preference for arginine amides.
Scand. J. Immunol. 6, 1055-1062 (1977)

(13) BENDTZEN K.
Human leucocyte migration inhibitory factor (LIF). IV. 3',5'-cGMP protects LIF against inactivation by the esterase inhibitor phenylmethylsulfonyl-fluoride.
Scand. J. Immunol. 6, 1375-1361 (1977)

(14) BENDTZEN K.
Biological properties of lymphokines.
Allergy 33, 105-119 (1978)

(15) BLOOM B., BENNETT B.
Mechanism of a reaction in vitro associated with delayed-type hypersensitivity.
Science 153, 80-82 (1966)

(16) BRAUN-FALCO O., BURG G.
Histochemische und cytochemische Untersuchungen bei der allergischen DNCB-Kontakt-Dermatitis des Meerschweinchens.
Arch. klin. exp. Derm. 239, 307-322 (1970)

(17) BÜHLER E.
Delayed contact hypersensitivity in the guinea pig.
Arch. Dermatol. 91, 171-177 (1965)

(18) BURG G., BRAUN-FALCO O.
1-Chlor-2,4-dinitrobenzol(DNCB)-Salbe zur Sensibilisierung, Testung und Behandlung von Patienten mit malignem Melanom.
Dtsch. Med. Wochenschr. 102, 210-211 (1977)

(19) BURG G.
Fermentocytochemische Befunde proliferationsfähiger Bindegewebszellen in der Haut unter besonderer Berücksichtigung von Lymphozyten, Monozyten, Makrophagen und Histiozyten.
Hautarzt 27, Suppl. I, S. 310-311 (1976)

(20) BURG G., KERL H., BRAUN-FALCO O., SCHMOECKEL CH., WOLFF H., KRESBACH H.
Morphological and functional typing of lymphoma cutis.
International Dermatopathology Symposium
Munich, Germany 1978, S. 20-

(21) CHAKRAVARTY N.
The metabolism of mast cells and biochemical changes associated with histamine release.
In: The mast cell (J. Pepys, A. Edwards eds.), pp. 38-46, Pitman Medical Publishing Co. Ltd., Kent, England, 1979

(22) CHESS L., ROCKLIN R., MACDERMOTT R., DAVID J., SCHLOSSMAN S.
Leucocyte inhibitory factor (LIF): Production by purified human T- and B-lymphocytes.
J. Immunol. 115, 315-317 (1975)

(23) McCLUSKEY R., BENACERRAF B., McCLUSKEY J.
Studies on the specificity of the cellular infiltrate of delayed hypersensitivity reactions.
J. Immunol. 90, 466-477 (1963)

(24) COFFEY R., MIDDLETON E.
Mechanism of action of antiallergic drugs and relationship of cyclic nucleotides to allergy.
In: Comprehensive Immunology, 3, Immunopharmacology (R. Good, S. Day eds.), pp. 203-226, Plenum Medical Book Company, New York and London, 1977

(25) DAVID J.
Delayed hypersensitivity in vitro: Its mediation by cell-free substances formed by lymphoid cell-antigen interaction.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 56, 72-77 (1966)

(26) DAVID J., DAVID R.
Cellular hypersensitivity and immunity.
Progr. Allergy 16, 300-449 (1972)

(27) DUMONDE D., WOLSTENCROFT R., PANAYI G., MATTHEW M., MORLEY J., HOWSON W.
Lymphokines: Non-antibody mediators of cellular immunity generated by lymphocyte activation.
Nature 224, 38-42 (1969)

(28) DVORAK A., MIHM M., DVORAK H.
Degranulation of basophilic leucocytes in allergic contact dermatitis reactions in man.
J. Immunol. 116, 687-695 (1976)

(29) DVORAK H., DVORAK A., MIHM M.
Morphologic studies in cellular hypersensitivity in guinea pigs and man.
Monogr. Allergy 8, 54-65 (1974)

(30) DVORAK H.
Delayed hypersensitivity.
In: The inflammatory process, Vol. 3, 2nd edition (A. Zweifach, A. Grant, R. McCluskey eds.), pp. 291-345, Academic Press, New York, 1974

(31) DVORAK H., HAMMOND E., COLVIN R., MANSEAU E., GOODWIN J.
Systemic expressions of cutaneous basophil hypersensitivity.
J. Immunol. 118, 1549-1557 (1977)

(32) DVORAK H., DOVRAK A.
Basophilic leucocytes in delayed-type hypersensitivity reactions in experimental animals and man.
Adv. Exp. Med. Biol. 29, 573-579 (1973)

(33) DVORAK H., ORENSTEIN N., GALLI S., DVORAK A.
Cutaneous basophil hypersensitivity.
In: The mast cell (J. Pepys, A. Edwards eds.), pp. 76-82, Pitman Midical Publishing Co. Ltd., Kent, England 1979

(34) EISEN H., TABACHNICK M.
Elicitation of allergic contact dermatitis in the guinea pig. The distribution of bound dinitrobenzene groups within the skin and quantitative determination of the extent of combination of 2,4-dinitrochlorobenzene with epidermal protein in vivo.
J. Exp. Med. 108, 773-796 (1958)

(35) FINDLAY S., LICHTENSTEIN L., GRANT A.
Generation of slow reacting substance by human leucocytes. II. Comparison of stimulation by antigen, anti-IgE, calcium ionophore and C5-peptide.
J. Immunol. 124, 238-242 (1980)

(36) FRIEDLAENDER M., DVORAK H.
Morphology of delayed-type hypersensitivity reactions in the guinea pig cornea.
J. Immunol. 118, 1558- (1977)

(37) FUKUSHIRO S., NAKAGAWA S., GOTOH M., KOSHIZAWA M., TANIOKU K.
The distribution of antigen in flare up reaction in contact sensitivity to DNCB.
Immunology 34, 549-553 (1978)

(38) GECZY A., BAUMGARTEN A.
Distribution of a contact sensitizer, 1-fluoro-2,4-dinitrobenzene, in the tissues of the guinea pig.
Immunology 22, 381-392 (1972)

(39) GECZY A., BAUMGARTEN A.
Lymphocyte transformation in contact sensitivity
Immunology 19, 189-203 (1970)

(40) GECZY C., GECZY A., WECK A. L. de
Antibodies to guinea pig lymphokines. II. Suppression of delayed hypersensitivity reactions by a "second generation" goat antibody against guinea pig lymphokines.
J. Immunol. 117, 66-72 (1976)

(41) GECZY C., OTZ U., WECK A. L. de
Production and characterization of antisera against human macrophage migration inhibitory factor (MIF).
Mol. Immunol. 17, 539-553 (1980)

(42) GEHA R., MERLER E.
Human lymphocyte mitogenic factor: Synthesis by sensitized thymus-derived lymphocytes, dependence of expression on the presence of antigen.
Cell. Immunol. 10, 86-104 (1974)

(43) GERSHON R., ASKENASE P., GERSHON M.
Requirement for vasoactive amines for production of delayed-type hypersensitivity skin reactions.
J. Exp. Med. 142, 732-747 (1975)

(44) GRANGER G., WILLIAMS T.
Lymphocyte cytotoxicity in vitro: Activation and release of a cytotoxic factor.
Nature 218, 1253-1254 (1968)

(45) HENTGES F., GECZY C., GECZY A., WECK A. L. de
Antibodies to guinea pig lymphokines. V. Suppression of normal lymphocyte transfer, immune lymphocyte transfer and direct reactions in the guinea pig by anti-lymphokine-globuline.
Immunology 32, 905-913 (1977)

(46) HISERODT J., GRANGER G.
Inhibition of human lymphocyte-mediated mitogen-induced cytotoxicity of murine L-929 cells by heterologous anti-human lymphotoxin antisera in vitro.
J. Immunol 119, 374-380 (1977)

(47) HUNZIKER N., WINKELMANN R.
Langerhans cells in contact dermatitis of the guinea pig.
Arch. Dermatol. 114, 1309-1313 (1978)

(48) ISHIZAKA T.
Membrane events in the triggering of mast cells.
In: The mast cell (J. Pepys, A. Edwards eds.), pp. 21-29, Pitman Medical Publishing Co. Ltd., Kent, England, 1979

(49) KATZ S.
Recruitment of basophils in delayed hypersensitivity reactions.
J. Invest. Dermatol. 71, 70-75 (1978)

(50) KERL H., BURG G., BRAUN-FALCO O.
Quantitative and qualitative dynamics of the epidermal and cellular inflammatory reaction in the primary toxic and allergic dinitrochlorobenzene contact dermatitis in guinea pigs.
Arch. Derm. Forsch. 249, 207-226 (1974)

(51) LAWRENCE H.
Transfer factor in cellular immunity.
Harvey Lect. 68, 239-350 (1974)

(52) LICHTENSTEIN L., MARONE G., THOMAS L., MALVEAUX F.
The role of basophils in inflammatory reactions.
J. Invest. Dermatol. 71. 65-69 (1978)

(53) MACHER E., CHASE M.
Studies on the sensitization of animals with simple chemical compounds. XII. The influence of excision of allergenic depots on onset of delayed hypersensitivity and tolerance.
J. Exp. Med. 129, 81-102 (1969)

(54) MAGUIRE H., CHASE M.
Exaggerated delayed-type hypersensitivity to simple chemical allergens in guinea pigs.
J. Invest. Dermatol. 49, 460-468 (1967)

(55) MIESCHER G.
Ekzem. Histopathologie, Morphologie, Nosologie.
In: Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten, Band II/1 (O. Gans, G. Steigleder eds.), S. 1-112, Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer 1962

(56) MONGAR J., FOREMAN J.
Control of histamine secretion.
In: The mast cell (J. Pepys, A. Edwards eds.), pp. 30-37, Pitman Medical Publishing Co. Ltd., Kent, England, 1979

(57) MOORHEAD J.
Tolerance and contact sensitivity to DNFB in mice. VIII. Identification of distinct T-cell subpopulations that mediate in vivo and in vitro manifestations of delayed hypersensitivity.
J. Immunol. 120, 137-144 (1978)

(58) MUNOZ L.
Immediate hypersensitivity reactions induced in mice by active and passive means.
J. Immunol. 98, 593-600 (1967)

(59) MUNRO A., BRIGHT S.
Products of the major histocompatibility complex and their relationship to the immune response.
Nature 264, 145-152 (1976)

(60) NAKAGAWA S., FUKUSHIRO S., GOTOH M., KOHDA M., NAMBA M., TANIOKU K.
Studies on the retest reaction in contact sensitivity to DNCB.
Dermatologica 157, 13-20 (1978)

(61) PADAWER J.
Mast cell structure: Implications for normal physiology and degranulation.
In: The mast cell (J. Pepys, A. Edwards eds.), pp. 1-8, Pitman Medical Publishing Co., Ltd., Kent, England, 1979

(62) PEARSON D., TAYLOR G.
Augmented local anaphylaxis at sites of delayed hypersensitivity skin reactions.
Immunology 33, 115-119 (1977)

(63) PICK E.
Lymphokines: Physiologic control and pharmacological modulation of their production and action.
In: Comprehensive Immunology, 3, Immunopharmacology (R. Good, S. Day eds.), pp. 163-202
Plenum Medical Book Co., New York - London, 1977

(64) PIRQUET VON C.
Allergie.
Münch. Med. Wochenschr. 30, 1457-1458 (1906)

(65) POLAK L., RINCK C.
Effect of the elimination of suppressor cells on the development of DNCB contact sensitivity in guinea pigs.
Immunology 33, 305-311 (1977)

(66) POLAK L., FREY J., TURK J.
A contribution to the mechanism of induction of tolerance to DNCB in guinea pigs.
Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 45, 258-261 (1973)

(67) POLAK L.
Immunolocial aspects of contact sensitivity. An experimental study.
Monographs in Allergy, Vol. 15.
Basel, S. Karger 1980

(68) POLAK L.
Vasoactive mediators in contact sensitivity.
In: New Trends in Allergy (J. Ring, G. Burg eds.), pp. 187-199, Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1981

(69) RAMSEIER H.
Leucotactic factor elaborated by mixtures of genetically dissimilar cells.
Science 157, 554-556 (1967)

(70) RANTUCCIO F., SINISI D., SCARDIGNO A., CONTE A.
Histologic aspects of patch test reactions in allergic contact dermatitis.
Contact Dermatitis 4, 338-342 (1978)

(71) REMOLD H.
Requirement for alpha-L-fucose on the macrophage membrane receptor for MIF.
J. Exp. Med. 138, 1065-1076 (1973)

(72) RING J., SEIFERT J., LOB G., LAND W., COULIN K., BRENDEL W.
Zum Risiko einer ALG Therapie. Mögliche Nebenwirkungen, Prophylaxe und Behandlung.
Klin. Wochenschr. 51, 487-493 (1973)

(73) RING J., SEIFERT J., LOB G., COULIN K., BRENDEL W.
Humanalbuminunverträglichkeit: Klinische und immunologische Untersuchungen.
Klin. Wochenschr. 52, 595-598 (1974)

(74) RING J.
Anaphylaktoide Reaktionen.
Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1978

(75) RING J., ARROYAVE C. M., FRIZLER M., TAN E. M.
In vitro histamine and serotonin release by radiographic contrast media (RCM). Complement-dependent and -independent release reaction and changes in ultrastructure of human blood cells.
Clin. exp. Immunol. 32, 105-118 (1978)

(76) RING J.
Zyklisches Adenosin-3-5-Monophosphat (c-AMP) und Allergie.
Hautarzt 29, 625-631 (1978)

(77) RING J., ENDRICH B., INTAGLIETTA M.
Histamine release, complement consumption, and microvascular changes after radiographic contrast media infusion in rabbits.
J. Lab. Clin. Med. 92, 584-594 (1978)

(78) ROCKLIN R.
Modulation of cellular-immune responses in vivo and in vitro by histamine receptor bearing lymphocytes.
J. Clin. Invest. 57, 1051-1058 (1976)

(79) ROSE M., PARROTT D.
Vascular permeability and lymphoblast extravasation into inflamed skin are not related.
Cell. Immunol. 33, 62-71 (1977)

(80) ROUPE G., STRANNEGARD Ö.
The influence of antibody on the induction and elicitation of allergic dermatitis.
Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 43, 691-699 (1972)

(81) ROUPE G., GRANERUS G.
Increased urine histamine after challenge of contact sensitivity in the mouse.
Acta Derm. Venereol. 59, 301-304 (1979)

(82) RUDDLE N., WAKSMAN B.
Cytotoxicity mediated by soluble antigen and lymphocytes in delayed hypersensitivity.
III. Analysis of mechanism.
J. Exp. Med. 128, 1267-1279 (1968)

(83) SIRAGANIAN R., BRODSKY M.
Automated histamine analysis for in vitro allergy testing.
J. Allergy Clin. Immunol. 57, 525-540 (1976)

(84) SKOG E., WAHLBERG J.
Immunological tolerance and dermal eosinophilia induced in dinitrochlorobenzene-sensitized guinea pigs.
Acta Derm. Verereol. 54, 437-441 (1974)

(85) SMITH R., BAUSHER J., ADLER W.
Studies of an inhibitor of DNA synthesis and a nonspecific mitogen elaborated by human lymphoblasts.
Am. J. Path. 60, 495-504 (1970)

(86) SORG D., KLINKERT W.
Chemical characterization of products of activated lymphocytes.
Fed. Proc. 37, 2748-2753 (1978)

(87) STASHENKO P., BHAN A., SCHLOSSMAN S., McCLUSKEY R.
Local transfer of delayed hypersensitivity and cutaneous basophil hypersensitivity.
J. Immunol. 119, 1987-1993 (1977)

(88) STINGL G., WOLFF-SCHREINER E., PICHLER W., GSCHNAIT F., KNAPP W., WOLFF K.
Epidermal Langerhans cells bear Fc and C3 receptors.
Nature 268, 245-246 (1977)

(89) STORCK H.
Das experimentelle Ekzem.
In: Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten, Band II/1 (O. Gans, G. Steigleder eds.), S. 114-211, Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer 1962

(90) THUESON D., SPECK L., LETT-BROWN M., GRANT A.
Histamine-releasing activity (HRA): I. Production by mitogen- or antigen-stimulated human mononuclear cells.
J. Immunol. 123, 626-632 (1979)

(91) THUESON D., SPECK L., LETT-BROWN M., GRANT A.
Histamine-releasing activity (HRA): II. Interaction with basophils and physiochemical characterization.
J. Immunol. 123, 633-639 (1979)

(92) UEDA K., KAMBARA T.
The chemical mediation of delayed hypersensitivity skin reactions. II. Characterization of a macrophage chemotactic factor from bovine gamma-globulin-induced skin reactions in guinea pigs.
Am. J. Path. 92, 241-252 (1978)

(93) WAKSMAN B.
Immunoglobulins and lymphokines as mediators of inflammatory cell mobilization and target cell killing.
Cell. Immunol. 27, 309-315 (1976)

(94) WAKSMAN B., NAMBA Y.
On soluble mediators of immunologic regulation.
Cell. Immunol 21, 161-176 (1976)

(95) WASSERMANN S.
The mast cell and the inflammatory response.
In: The mast cell (J. Pepys, A. Edwards eds.), pp. 9-20, Pitman Medical Publishing Co. Ltd., Kent, England, 1979

(96) WECK A. L. de
Molecular models for induction of the immune response and their relationship to the genetic control of histocompatibility antigens.
Transplant. Rev. 10, 3-35 (1972)

(97) WECK A. L. de
Immunosuppression (theoretische Grundlagen).
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 78, 750-751 (1972)

(98) WECK A. L. de, SPENGLER H.
Lymphocyte active serum factors.
Dev. Biol. Stand. 27, 91-97 (1974)

(99) WECK A. L. de
Molecular mechanism of T- and B-lymphocyte triggering.
Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 49, 247-254 (1975)

(100) WECK A. L. de
Summing up: Soluble mediators of immunity.
Adv. Exp. Med. Biol. 114, 533-537 (1979)

(101) WECK A. L. de, OTZ U., GECZY C., GECZY A.
Activity and molecular properties of mitogenic factors produced by mixed lymphocyte reactions (MLC-MF) in humans and guinea pigs.
Transplant. Proc. 11. 1387-1389 (1979)

(102) WEISBART R., YU D., BILLING R., FAN P., CLEMENTS P., PAULUS R.
Cellular collaboration in the production of human leucocyte migration inhibition factor (LMIF).
Immunology 34, 815-819 (1978)

(103) YOSHIDA T., BIGAZZI P., COHEN S.
The production of anti-guinea-pig lymphokine antibody.
J. Immunol. 114, 688-691 (1975)

DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. O. Braun-Falco danke ich für die Überlassung des Dissertationsthemas und die Arbeitsmöglichkeit in der Dermatologischen Klinik und Poliklinik der Universität München.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv. Doz. Dr. J. Ring für die freundliche Beratung und für fruchtbare Anregungen bei der Auswertung.

Herrn Prof. Dr. H. Wolff und Herrn Prof. Dr. G. Burg danke ich für Ratschläge und Kritik bei der Beurteilung histologischer Präparate.

Herzlich bedanken möchte ich mich bei Frl. Beier, die mir bei der Planung der Versuche wertvolle Hinweise gab und bei der Durchführung tatkräftige Unterstützung zuteil werden ließ.

Weiterhin soll an dieser Stelle Fr. Heilmann und Fr. Ebmayer für Ratschläge bei labortechnischen Arbeitsgängen, sowie Fr. Simon, Hr. Harrasser und Frl. Trautwein für die Beratung bei der Anfertigung der histologischen Präparate gedankt werden.

Herrn Bilek bleibe ich für die freundliche Unterstützung in Fragen der graphischen Gestaltung, Herrn Dumhardt für die Betreuung der Tiere verbunden.

LEBENSLAUF

Name	Hans, Heinrich Grimm
Geburtstag und -ort	21. Februar 1956 in Straubing
Eltern	Johann Grimm und Ehefrau Auguste, geb. Kern
Beruf des Vaters	Lehrer
Schulbildung	4 Jahre Volksschule in Reibersdorf, 1962-66, 9 Jahre Gymnasium in Straubing am humanistischen Johannes-Turmair-Gymnasium, 1966-75
Abitur	Juli 1975
Studium	10 Semester Zahnheilkunde, 11 Semester Humanmedizin, z.Z. im Praktischen Jahr, an der Ludwig-Maximilians-Universität in München
Abschluß	Staatsexamen in Zahnheilkunde im November 1980
Persönliche Verhältnisse	ledig, z.Z. wohnhaft in 8000 München 45 Bernsteinweg 3